الأستاذ الدكتور أحمد كمال أحمد على

الماركر الوراثى
بين النظريـة والتطبيـق
فى تربية الحيوان

Likely location of major gene

Lod score

Location of markers

Position on chromosome



مكتبة الأنجلو المصرية

الماركـــر الوراثـــى

بين النظرية والتطبيق فى تربية الحيوان

تأليف

دكتور/ أحمد كمال أحمد على

استاذ تربية الحيوان

كلية الزراعة - جامعة القاهرة

مكتبة الأنجلو المصرية

بطاقة فهرسة

فهرسة أثناء النشر إعداد الهيئة المصرية العامة لدار الكتب والوثائق القومية ، إدارة الشئون الفنية .

علي ، احمد كمال احمد .

المارکر الوراثی بين النظرية والتطبيق فی تربية الحيوان

تاليف : احمد كمال احمد علی . - ط١. -

القاهرة : مكتبة الانجلو المصرية ،٢٠٠٩ .

١٨٣ ص ، ١٧× ٢٤ سم

١- الوراثة (حيوان)　　　أ- العنوان

٢ - الحيوانات - تربية

رقم الإيداع : ١٦١١٣

ردمك :٣-٢٥٦٩-٠٥-٩٧٧　　　تصنيف ديوى : ٥٩١,٣٥

المطبعة : محمد عبد الكريم حسان

تصميم غلاف : ماستر جرافيك

الناشر: مكتبة الانجلو المصرية

١٦٥ شارع محمد فريد

القاهرة – جمهورية مصر العربية

ت : ٢٣٩١٤٣٣٧ (٢٠٢) ؛ ف : ٢٣٩٥٧٦٤٣ (٢٠٢)

E-mail : angloebs@anglo-egyptian.com
Website : www.anglo-egyptian.com

بسم الله الرحمن الرحيم

" لا تَحْسَبَنَّ الَّذِينَ يَفْرَحُونَ بِمَا أَتَوْا وَيُحِبُّونَ أَن يُحْمَدُوا بِمَا لَمْ يَفْعَلُوا فَلا تَحْسَبَنَّهُمْ بِمَفَازَةٍ مِّنَ الْعَذَابِ وَلَهُمْ عَذَابٌ أَلِيمٌ "

(آل عمران - آية ١٨٨)

الإهداء

إلى والدي – رحمه الله – الذي عودني أن أطمع في ثراء الفكر والعطاء

إلى والدتي التي جادت علي بالدعاء تلو الدعاء

إلى زوجتي التي كافحت معي بصمت العقلاء

إلى ابني محمد ومهيمن اللذين اجزلا مشاعرهما نحوي بسخاء

إلى كل أستاذ زرع في نبتة من علم تربية الحيوان

إلى كل طالب يسعى في طلب العلم

إليكم أهدي ثمرة جهدي

المحتـويات

الباب الخامس

خرائط المسافات لموقع الكيوتى إل فى الخرائط غير المكثفة

الباب السادس

تحليل الإرتباط الوراثى

الباب السابع

إستراتيجيات استخدام الماركرز

الباب الثامن

الانتخاب بناءا على ثلاثة أنواع من الماركرز

الباب التاسع

إستخدام القيمة الدلالية Indicator variable

لحساب تكرار الاليلات وتباينها

الباب العاشر

إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل

الباب الحادى عشر

النموذج المختلط للكيوتى إل

الباب الثانى عشر

الماركرز و التنوع الوراثي

الباب الثالث عشر

ألإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض

الباب الرابع عشر
برامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س)

مقدمة الكتاب

مـــع ظهـــور الألفـــية الجديدة، ألفية التقدم العلمى وظهور أفرع مختلفة للعلوم البيولوجية ومن بينها:

التقدم الهائل فى علم الوراثة الجزئية والذى أدى إلي معرفة الخريطة الوراثية وتحديـــد التركيـــب الجينومى للإنسان والذى لازمه أيضا تقدم فى معرفة التركيب الجيـــنومى لكـــل مـــن الحيوان والنبات. وبتقدم علم الجينوم، يسعى العلماء لمعرفة وتحديـــد وظيفة الدنا DNA ليس فقط للأفراد ولكن أيضا تحديد وتطور الجينوتيب بين الأجناس، الأنواع، العائلات؛ والمجموعات الوراثية المختلفة.

وتســـاهم أفـــرع العلوم الأخرى فى هذا التقدم، فوراثة العشائر لها أهميتها فى تحديـــد الـــيلات الجينات وتأثير عوامل الطفرة؛ الهجرة؛ الصدفة؛ والانتخاب على تغـــير التكرار الاليلى، وأيضا معرفة اثر الإرتباط المتزن، والارتباط غير المتزن على التكرار الجينى فى العشيرة.

وتســـاهم الوراثـــة الكمـــية فى تحديد نسبة التأثير التجمعى، وغير التجمعى، والبيـــئى، وكذلك التداخل بينها فى تقييم الحيوان، وتحديد كفاءته للصفات الإنتاجية، والفسيولوجية، والمقاومة المرضية.

وللإحصاء الوراثى دورا أساسيا فى علم الجينوم لان العينة العشوائية والخطأ التجريبى موجودا دائما فى أبحاث الجينوتيب ويعتمد التقييم الوراثى للحيوانات على تحلـــيل البـــيانات التى تتوافر فى مظهر الصفة، إى معلومات فى سجلات الحيوان الروتينـــية، وكذلـــك معلومـــات عـــن الجيـــنات فـــى مواقع الصفات الكمية على الكروموسومات.

وكـــان الـــتقدم فـــى علـــم البرمجة واكتشاف حسابات آلية ذات ذاكرة كبيرة وسرعات فائقة اثر كبير فى التقدم فى تحديد الجينوتيب، وذلك بإيجاد بيانات محاكاة لكثير من نظم التزواج، ونظم تربية الحيوان.

وتحديـــد الجيـــنات فى مواقع الصفات الكمية غير معروفا لكثير من الصفات والـــتى تهـــم مربى الحيوان، لذلك كان من الضرورى البحث عن جينات مرتبطة معهـــا، وقريـــبة منها على نفس الكروموسوم والتى منها يمكن الاستدلال على تلك المواقع.

ويتـــناول هـــذا الكـــتاب دور الماركر الوراثى كأحد فروع التحليل الجينومي والـــذى ســـاعد فى تحديد مواقع الصفات الكمية، والذى تلاه مباشرة معرفة افضل طـــرق الانـــتخاب للحيوانات الممتازة فى برامج تربية الحيوان. كما يتناول الكتاب أيضا كيفية عمل المزيج من افرع العلوم السابق ذكرها فى طرق استخدام الماركر الوراثـــى، وطرق تحديد مواقع الصفات الكمية، ومعرفة تأثيرها، وتحديد كمية هذا التأثير فى برامج التحسين الوراثى للحيوان.

١

الباب الأول

التحسين الوراثى والوراثة الجزئية

الباب الأول
التحسين الوراثى والوراثة الجزئية

أعـتمد الـتقدم فى التحسين الوراثى للصفات الكمية فى الحيوانات المزرعية سـابقًا علـى الانتخاب بناءًا على الصفات المظهرية أو القيمة التربوية المقدرة من القـيمة المظهرية دون معرفة لعدد الجينات وتأثيرها؛ أو موقعها على الكروموسوم والتى تؤثر على الصفات الكمية.

ومـع الـتقدم التكنوحيوى للوراثة الجزئية Molecular Genetics تم معرفة التركيب الوراثى للحيوان على مستوى الـ DNA، وبالتالي يمكن الانتخاب مباشرة بناءًا على الجينات التى تؤثر على الصفة مثل:

الجيـن الرئيسي Major Gene مواقع الصفات الكمية (الكيوتي ال – QTL) Quantitative Trait Loci؛ ماركـرز Markers مرتـبطة ارتـباطًا وثيقًا بمواقع الكيوتـي ال. وبالتالـي يمكن الحصول على تحسين وراثى أكبر منه عند استخدام القيمة المظهرية ويرجع ذلك للعوامل التالية :

١- بفـرض عدم حدوث خطأ وراثى، نجد أن الوراثة الجزئية لا تتأثر بالظروف البيئية ولذلك لها معامل وراثى Heritability يساوى الواحد صحيح.
٢- تتوافر الوراثة الجزئية فى الأعمار المبكرة أى فى عمر الأجنة وبالتالى يمكن الحصـول علـى المعلومات اللازمة للانتخاب فى عمر مبكر مما يمكن معها تقليل مدى الجيل Generation Interval.
٣- يمكـن الحصـول علـى معلومـات الوراثة الجزئية من جميع الأفراد تحت الانتخاب، وهذا له أهمية خاصة للصفات المرتبطة بالجنس، والصفات مرتفعة القيمة الاقتصادية، والتى يصعب قياسها إلا بذبح الحيوانات كصفات الذبيحة.

ويعـتمد التطبيق الفعلى للوراثة الجزئية فى مجال تربية الحيوان خمس قواعد أساسية:

١- رسم الخريطة الوراثية Genetic Map.
٢- تحديد التعددية الأليلية Allelic Polymorphism.
٣- تحديـد المواقع الوراثية للصفات الكمية (QTL) وتقدير الإرتباط بين البيانات الوراثية (الماركرز) والصفات الكمية ذات القيمة الاقتصادية.

٤- التقييم الوراثي والذى يعتمد على التكامل بين البيانات المظهرية وبيانات الوراثة الجزئية واستخدام افضل الطرق الإحصائية لتقدير القيمة التربوية فى برامج التحسين الوراثي.

٥- استخدام برامج الانتخاب بمساعدة الماركر أو ما يسمى برامج الماركر المساعدة للإنتخاب (م ا س) Marker Assisted Selection (MAS) حتى يمكن تطوير استراتيجيات التربية وبرامج استخدام معلومات الوراثة الجزئية فى الإنتخاب ونظم التزاوج المختلفة.

الجينات والصفات الكمية :

هناك اتجاهان لتحديد الجينات التى تؤثر على الصفات المهمة:

أولاً: الاتجاه الجينى :

وفى هذا الاتجاه يمكن تحديد الجينات التى تؤثر على صفة معينة، من خلال معرفة الأساس الفسيولوجى للصفة، وعليه يمكن تحديد كل من: الجينات؛ التعديدية الجينية Polymorphism، المصاحبة بين التعديدية الجينية؛ والصفة الكمية. وتتم هذه التحديدات بالتحليل الإحصائي للسجلات المظهرية للأفراد التى تحمل الصفة فى العشيرة تحت الدراسة. وباستخدام هذه الطريقة أمكن تحديد تأثير عدد من الجينات الرئيسة Major Genes. ومن أهم الأمثلة على ذلك:

١- الجين المسمى ب (إى إس أر – Estrogen Receptor (ESR. وهو المسؤول عن عدد الأفراد فى البطن الواحدة Litter Size فى الخنازير.

٢- الجين المسمى مايوستاتين Myostatin وهو المسؤول عن مضاعفة وزيادة العضلات فى الفئران وماشية اللحم. وقد تم تحديد هذا الجين على الكروموسوم رقم 2 قرب النهاية السنترومرية فى الأبقار وهو يسبب مضاعفة العضلات Double Muscling وحيث يؤثر وجود الجين على محصول اللحم وسمك الدهن. وقد وجد أن الحيونات ذات النسخة من الجين غير الفعال Inactivated Myostatin تعطى محصولاً أكثر من اللحم وأقل فى الدهن.

٣- الجين المسمى البورولا إف جين Booroola sheep F gene وهو يؤثر على معدل التبويض ويسبب زيادة فى معدل التبويض وزيادة عدد الحملان فى البطن الواحدة ويؤثر الجين تأثيرًا تجميعيا حيث أن وجود واحد الیل یسبّب زيادة واحد إلى واحد ونصف بويضة. وهو جين موجود فى أغنام المرنيو

الأســـترالية Cisro Booroola Flock. والجدير بالذكر أن هذا الجين لا يظهر أى تأثـــير للنفاذية Pleiotropic effect على الصفات الإنتاجية الأخرى. بينما يظهـــر تأثـــير هـــذا الجين. ويظهر تأثير هذا الجين على خلايا الجرانيولوزا granulose cells لحويصـــلة جراف وتقليل تأثير هرمون الإنهبين Inhibin وزيادة مستوى الجونادوتروبين (FSH) والجدول التالي يوضح ذلك.

	++	F+	FF
معدل التبويض	1.4	2.9	4.7
عدد الأفراد فى البطن	1.5	2.4	2.7

* حيث FF يمثل التركيب الأصيل للبرولا.

٤- الـــتعددية الاليلـــية للنيكلوتيدة الفردية Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

ومنها الجين DGAT1. أو ما يسمى Diacylglycerol O-acyltransferase 1 والـــذي يلعـــب دورًا مهمًـــا فى تشفير الأنزيم والذى بدوره يؤثر فى تخليق الـــتراى جليسريدز Triglycerides (وذلك عن طريق هدم التفاعل من الداى اســـيل جليســـرول Diacylglycerol وال Fatty acyl-CoA عـــند تكويـــن الترايجليســـريدز) والنيكلوتـــيدة DGAT1 تقرب من منطقة الكيوتى ال QTL لإنـــتاج الحليـــب فـــى منطقة السنترومير للكروموسوم 14 وقد وجد ان هناك اســـتبدال غير منتظم لليسين Lysine بالألانين Alanine للنيكلوتيدة (K232A). والأليلين فى هذا الموقع هما A, K يعملان كشفرة لليسين والألانين وبالتالى هـــناك ثلاثة تراكيب وراثية هى KK, KA, AA فالتركيبان KK, AA يمثل الحـــيوانات المـــتطابقة Homozygous. الأليل المسؤول عن الاختلافات فى الليســـين مســـؤول عـــن الزيادة فى محصول الدهن ونقص كل من محصول البروتيـــن ومحصول اللبن، بينما الأليل المسؤول عن الاختلافات فى الألانين يقلل نسبة الدهن ويزيد كل من محصول البروتين ومحصول اللبن.

٥- الجيـــن CAPN1 له تعددية اليلية ومسؤول كما ذكرنا سابقا عن تشفير الأنزيم Protease u-Caplain كمـــا أنـــه واحـــد من أهم الأنزيمات التى تعمل على طراوة اللحم، كما أنه يعمل على تحليل الأنسجة العضلية بعد الذبح أثناء التيبس الرمـى Postmortem ويوجد جين CAPN1 على الكروموسوم 29 إذ يحتوى علـــى نيكلوتـــيدات ذات علاقـــة بطراوة اللحم، ووجد هذا التأثير فى كل من

الهيرفورد والبراهما وكذلك الخليط بينهما. وتم تحديد أربعة نيكلوتيدات فردية (SNP) باستخدام أربعة ماركرز هي:

أ – الماركر CAPN316 له الاليلين Cytidine/guanosine polymorphism C/G حيث أن C يشفر الالانين و G يشفر الجليسين والماركر له تركيبين هما CG, GG.

ب– الماركر adenosine/guanosine polymorphism (A/G) CAPN 530 الاليل A يشفر الايزولسين وال G اليل يشفر الفالين.

ج– الماركر Adenosine/Cytidine Polymorphism(A/C) CAPN 4753 وله ثلاثة تراكيب AA,AC,CC.

د– الماركر Adenosine/Thymidine Polymorphism(A/T) CAPN 5331 له ثلاثة تراكيب AA,AT,TT.

ثانيًا: الاتجاه المسح الوراثى Genome Scan :

يستخدم هذا الإتجاة لتحديد الكيوتى إل باستخدام الجينات المعلمة (الماركرز) والتى تتواجد على طول التركيب الوراثى. ويجب ان يكون كثافة الماركرز عالية اى علي بعد قريب من الكيوتى إل. وان يكون هناك اتزان غير عشوائى بينه وبين الكيوتىأل كما هو الحال في الخلط بين الأنواع أو الخطوط الوراثية كتربية الأباعد Out breeding.

والدقة فى تحديد الكيوتى إل تعتمد علي توافر الماركرز وتوافر عشائر ذات حجم كبير.

والعشائر الملائمة لدراسة وراثة الكيوتى إل هى:

١– عائلات أنصاف الأشقة لعشائر متباعدة Half sib families.
٢– الجيل الثانى (F2) الناتج عن خلط عشائر متباعدة Outbreeding.
٣– عشائر مرباة تربية داخلية Inbred Population.
٤– عشائر الخلط الرجعى Backcrossing.

الماركر Marker :

الماركر هو جين يستخدم لتحديد مواقع جينات أخرى علي الكروموسوم ومنها الكيوتى إل وقد يكون موقع الماركر هو نفسه موقع الكيوتى إل سيأتي ذكر ذلك لاحقًا.

ويمكن تقسيم الماركرز الي:

١- الماركـــرز المباشـــرة وهى جينات لمواقع علي الكروموسوم لها قدرة التشفير لوظـــيفة معيـــنة. بمعـــنى أخـــر هى جينات وظيفية، ويعتبر هذا النوع من الماركـــرز مـــن أهـــم الماركرز المطلوبة فى برامج التربية، لان لها علاقة مباشرة مع ظاهرة بيولوجية معينة، أو صفة معينة لها تعبيرا مظهريا. وتعتبر الماركـــرز المباشرة من اصعب الماركرز تحديدا Difficult to Detect فمن الصـــعوبة بمكـــان تحديـــد سبب علاقتها مع الصفات الكمية والتي لها علاقة وراثية تجمعية.

ومـــن أهـــم الماركـــرز المباشـــرة علـــي ســـبيل المثال الجين المسمى CoA-Diacylglycerol Acyltransfereace (DGAT1) وجيـــن مســـتقبلات هـــرمون النمو Growth Hormone Receptor وهذان الجينان لهما تأثيرهما علـــى صـــفة إنـــتاج الحليـــب ومكوناته. كما أن هناك الماركرز ذات التأثير المباشـــر للصفات العضوية المرضية Congential Defects والتى لها علاقة بالتمَثـــيل الغذائـــى، وعموما يمكن تحديد هذا النوع من الماركرز ذات التاثير المباشر للصفات العضوية المرضية عنها فى الصفات الكمية. ومن امثلة هذا الـــنوع من الماركرز Bovine Leukocyte Adesion Deficiency أو نقص تخليق اليوريدين مونوفوسفات Uridine Monophosphate Synthesis. ومن الأمـــثلة الأخرى، الجين المسؤول عن تخليق ال K-Casine والجين المسؤول عن تكوين ال B-Lactoglobulin فى الحليب.

وتســـتخدم الماركـــرز المباشرة (أو تسمي أحيانا Casutive Genes) فى بـــرامج التلقيح الصناعى لمنع عيوب خلقية معروفة وذات تأثير ملموس، مما يتطلـــب اســـتخدام الطلائـــق الصـــغيرة بعد فحصها وراثيا لكشف الاليلات المتنحـــية. ويحظر إدخال الطلائق الخليطة Heterozygous Bulls فى برامج الاختـــبار بالنســـل. ويستخدم نسل الطلائق الأصيلة للاليلات الطبيعية والتى لا تتأثر بلاليلات المتنحية المميتة كما ان تكرار الاليلات المعيوبة Defective Alleles فى عشائر الأبقار يتناقص بمعدل النصف مع التقدم جيلا بعد جيل.

٢- ماركرز أخرى اسهل تحديدا وأقل أهمية كالماركرز التى فى حالة ارتباط غير متزن Linkage Disequilibrium وتتواجد على بعد عدة وحدات CMS من الماركـــرز الوظيفية وهى مثل الماركرز المباشرة تسمح بالانتخاب باستخدام

الجينوتيب عبر العائلات Across Families ومثال على ذلك ماركر قريبا من جين البرولاكتين والذى له تأثيرا على إنتاج الحليب وتركيبه.

٣- الماركـــرز السهل اكتشافها كالماركرز التى فى حالة ارتباط متزن Linkage equilibrium. وتعـــتمد أكـــثر بـــرامج تحســـين الماشية على هذا النوع من الماركرز حيث يسهل التعرف على هذا النوع من الماركرز باستخدام عائلات أنصـــاف الاشـــقة الكبيرة الحجم. وهى عموما تتواجد على مسافات ابعد من الجيـــنات الوظيفـــية على الكروموسوم، لذلك يؤدى بعد المسافات إلى حدوث العـــبور وتكويـــن توافـــيق وراثية genetic recombination، مما يؤدى الي حـــدوث عكـــس لطور الارتباط reverse the linkage phase بين الماركرز والجيـــنات الوظيفـــية مـــن جيل الى جيل مقللا اهميتها للانتخاب حتى داخل العـــائلاتWithin family selection. وتـــبدو أهمية الماركرز في الانتخاب للصـــفات ذات المعامل الوراثى Heritability المنخفض، وفى الحالات التى تـــبدو فيها صعوبة فى إجراء الإختبار بالنسل لصعوبة الحصول على بيانات مظهرية.



الباب الثاني

نظم تحليل الارتباط الوراثى

الباب الثانى
نظم تحليل الارتباط الوراثى
Single Marker Analysis

تحلـــيل الإرتباط بين الماركرالفردي والكيوتي إل باستخدام نظام البنت ونظام الحفيدة.

أولا: نظام البنت :

في هذا النظام يتم تتبع أليلات الكيوتي إل لجيلين، أو أكثر من الطلوقة التى تم اختـــيارها قـــبل أن تستخدم في الانتخاب. وفي هذا النظام تستخدم عائلات أنصاف الاشـــقة لتحلـــيل الارتباط بين الماركر المنفرد والكيوتى إل والرسم التالي يوضح ذلك:

طلوقة		أم
M1 ________ A1		MX --------------- AY
M2 ________ A2	X	MX --------------- AY
	Mi1	Mi2	
بنت Yi1k		بنت Yi2k
M1 ________ A1		M2- ________ A2
-------------------		-------------------
MX AY		MX AY

ماركر من الاب M1, M2

ماركرمن الام MX

جينات QTL من الاب A1, A2

جينات QTL من الام Ay

القيمة المظهرية للصفة للبنت k والطلوقة i والِيل الماركر j هي Yijk

_____ كروموسوم الأب

------ كروموسوم الأم

يلاحـــظ أن لـــو كان الفرد (الطلوقة مثلا) خليط للماركر (M1,M2) ومرتبط بجيـــن الكيوتي إل (A1, A2). عندئذ يمكن أن نتوقع وجود تراكيب وراثية جديدة

حيث يستقبل النسل (بنات الطلوقة) جين ماركر من الأب مرتبط مع أليل للكيوتي إل (A1, A2). وهنا يمكن تقسيم النسل إلي مجموعات طبقا لاليل الماركر الذي ينتقل مـن الأب الخلـيط للماركـر، وبذلك يمكن إيجاد فروق بين متوسط القيمة الكمية لمجموعتي النسل التي إنتقل إليها إليلى الماركر وإيجاد فروق معنوية للماركر داخل الطلوقة (باستخدام اختبار t) يكون دليلاعلي وجود جين الكيوتي إل بجانب الماركر ويشرح الإحصائي ذلك.

النموذج الإحصائي لنظام البنت :

هذا النموذج يمثل النظام الهرمي لمجموعة الماركر داخل الطلوقة.

$$Yijk = Si + Mij + eijk$$

حيث نجد

القيمة المظهرية للصفة للبنت	Yijk =
تأثير الطلوقة	Si =
تأثير الاليل j للطلوقةi	Mij =
الخطأ	Eijk =

معوقات نظام البنت :

١- يتطلـب نظـام البنت دراسة الجينوتيبنج Genotyping لعدد كبير من البنات ولعـدد كبـير من الماركرز، إى أن نظام البنت يتطلب عينة ذات حجم كبير Large sample size، مما يؤدي إلي زيادة تكاليف الدراسة.

٢- أحـيانا يكـون هناك عدد محدود من البنات لكل طلوقة، لذلك يستخدم بيانات البـنات لعـدد من الطلائق مجتمعة حتي يمكن زيادة قوة الاختبار الإحصائي المستخدم.

٣- أحـيانا يكـون الطلوقـة خليط لجين الماركر Heterozygous، ولكن أصيلا Homozygous لجيـن الكيوتـي إل.عـند ئـذ إنعزال الماركر والكيوتي إل لايعطي فروق إلا في جزء بسيط بين مجموعتي البنات بالنسبة لمتوسط القيمة الكمية لهذا الطلوقة.

٤- في حالة وجود عدد من عائلات أنصاف الاشقة قد تختلف علاقة الإرتباط بين المارکـر والكيوتـي إل فـي الأفراد المختلفة، بمعني أن بعض الأفراد يكون المارکـر فـي كروموسوم معين مرتبط بكيوتي إل، تزيد من متوسط الصفة

الكمية، بينما يكون في كروموسوم أخر الماركر نفسه مرتبط بكيوتي إل، تقلل مـــن متوسط الصفة الكمية، لذلك يكون إختبار (t) غير كاف لاظهار الفروق بين مجموعات البنات.

٥- عـــند استخدام الطلوقة الخليط لماركر معلوماتي له أكثر من أليل، وعند توارث نســل الطلوقة لأليلات الماركر الخليط يجري إختبار (F) كنسبة بين متوسط المـــربعات للماركر أليل داخل الطلوقة إلي متوسط المربعات الراجع للخطأ. وهـــذا الإختبار يختلف من ماركر عن أخر وحتي بالنسبة للماركرز والتي لها المحـــتوي نفســـه البلومورفزمي Polymorphism Information Content (PIC). نجـــد أن الاختلافات التي ترجع للصدفة تتسبب فى اختلاف درجات الحرية من ماركر إلي أخر مما يعطى قيما مختلفة لاختبا (F).

ثانيا: نظام الحفيدة :

وفـــي هـــذا النظام يكون هناك جد Grandsire يحمل أليلات الماركر (M1,M2) ومرتـــبطة بأليلات الكيوتي إل ويتتبع إنتقال أليلات الماركر والمرتبطة بأليلات الكيوتي إل (A1,A2) مـــن الجـــد الـــي الحفيدة عبر أبناء Sons من الجد. ويتم تسجيل توريث Genotyping للأبـــناء Sons والطلائق الجد الخليطة للماركر وكذلك تقدير قيمة الصفة الكمية (كمية الحليب مثلا) في بنات الأبناء (الحفيدات) Granddaughters.

النموذج الإحصائي لنظام الحفيدة:

هـــذا الـــنموذج يمـــثل الـــنظام الهرمي وفيه الأبناء داخل اليل الماركر داخل الطلوقة الجد.

وأن وجـــود تأثـــير معنوي للماركر داخل الجد دليل علي إنعزال الكيوتي إل المرتبطة بالماركر.

$$Yigkl = Gi + Mij + Soijk + eigkl$$

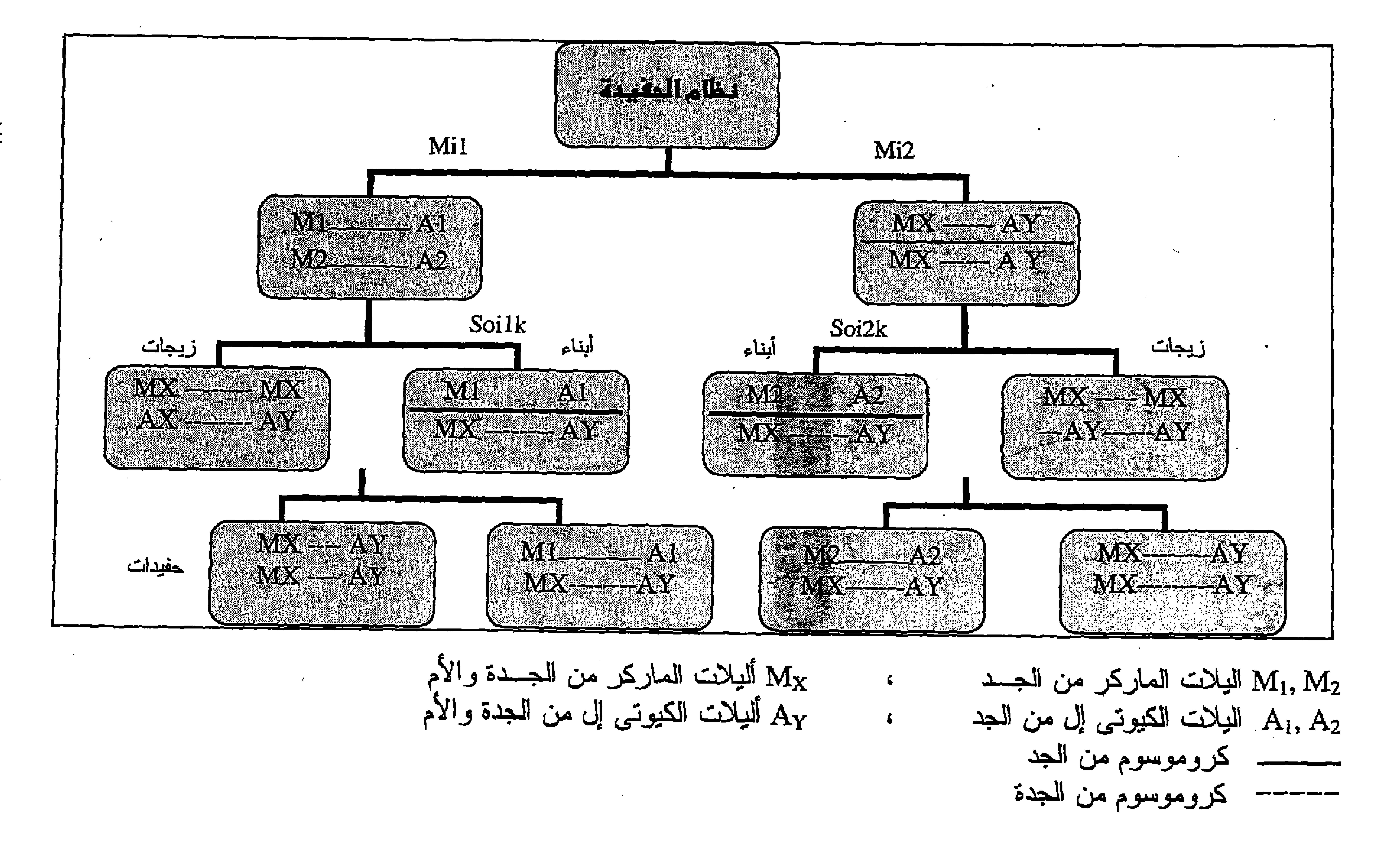
Yijkl = القيمة المظهرية للصفة للحفيدة l بنت الابن k أبن الجد i ولها اليل الماركر j لذلك يتكون مجموعتين من الأبناء لكل جد

Gi = تأثير الجد i

Mij = تأثير أليل الماركر j للجد i

Soijk = تأثير الابن k للجد i والاليل j

Eijk = الخطأ


نظام الحفيدة
Mi1
Mi2
M1——A1
M2——A2
MX——AY
MX——AY
Soi1k
Soi2k
زيجات
أبناء
أبناء
زيجات
MX——MX
AX——AY
M1 A1
MX——AY
M2 A2
MX——AY
MX——MX
AY——AY
حفيدات
MX——AY
MX——AY
M1——A1
MX——AY
M2——A2
MX——AY
MX——AY
MX——AY
M_1, M_2 اليلات الماركر من الجـد ، M_X أليلات الماركر من الجـدة والأم
A_1, A_2 اليلات الكيوتى إل من الجد ، A_Y أليلات الكيوتى إل من الجدة والأم
—— كروموسوم من الجد
----- كروموسوم من الجدة

كمـــا سبق توضيح توارث الماركر الفردي باستخدام نظام البنت ونظام الحفيدة وهناك عقبات للتحليل الوراثى باستخدام الماركر الفردى يجب ذكرها.

عقبات للتحليل الوراثي باستخدام الماركر الفردي:

مـــن المعـــروف أن معـــرفة التوريث Genotyping لعدد كبير من الماركرز يتطلـــب بيانات كثيرة، وكذلك تحليل معملي مكثف للميكروساتليت Microsatellite ولكن هناك عوائق هامة لتحليل الماركر الفردي الوحيد أهمها:

١- لا يوجد ماركر تام الخلط (له درجة خلط 100%). واستعمال الماركر العالي المعلوماتـــية Highly Informative Markers مثل الماركر المتعدد الاليلية له متوســـط درجة خلط 70-50%. وانه لأي ماركر، يكون هناك بعض الطلائق تكـــون خلـــيطة Heterozygous، وبعـــض الطلائق أصيلة Homozygous، وغير معلوماتية NonInformative.

٢- تحلـــيل الماركـــر الوحـــيد ينتج عنه كثير من المعلومات، ويكون هناك تحيز واضح فى الموضع المقدر للكيوتي إل.

٣- لو كان هناك عدد من الماركرز،والتي لها معدل مختلف للمحتوي المعلوماتي، مرتـــبطة للكيوتـــي إل، نجـــد أن الماركر الذي يعطي أكبر دليل علي وجود الكيوتـــي إل هو الماركر الذي له أكبر قدر معلوماتي Informative Marker **وليس** الماركر الأكثر قربا Closest Marker للكيوتي إل.

٤- عـــند تقديـــر موضع، وتقدير تأثير الكيوتي إل يكون متوسط تأثير الكيوتي إل وموضـــعها ممزوجيـــن Confounded. وهذا المزج يؤدي إلي تقدير متحيز لتأثـــير الكيوتـــي إل وتقديـــر منخفض لقوة الاختبار الإحصائى Statistical power خصوصـــا عندما يكون هناك خريطة وراثية منخفضة الكثافة Low Density Map.

٥- لا يمكـــن تحديد موضع الكيوتي إل بدقة وذلك لعدم الإستقلا لية بين إختبارات النظرية الفرضية للماركرز المرتبطة، والممزوجة مع تأثير وموضع الكيوتي إل.

٣

الباب الثالث

الاحتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب

الباب الثالث

الاحتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب

Conditional Probability

الاحـــتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب هو العنصر الاساسى الذى بنى عليه نظـــرية خريطة الكيوتى إل. حيث انه لو كان الجينوتيب للكيوتىإل هو Q_k ومعطا جينوتيب الماركر الملاحظ M_j يكون الاحتمال الشرطى هو:

$$Pr(Q_k / M_j) = Pr(Q_k, M_j) / Pr(M_j)$$

وتصبح المعادلة العامة لمتوسط جينوتيب الماركر M_j هى:

$$\mu_{M_j} = \sum_{k=1}^{N} \mu_{Q_k} Pr(Q_k / M_j)$$

اي انـــه يوجـــد عدد N كيوتى إل QTL $(Q_1, Q_2, \ldots, Q_N)$ حيث أن متوسط k^{th} كـــيوتى إل هـــو μ_{Q_k} وأن تأثير الكيوتى إل يكون من خلال μ_{Q_k} بينما يكون موضع الكيوتى إل من خلال الاحتمال الشرطى Conditional Probability. $Pr(Q_k / M_j)$

حساب الاحتمال الشرطى فى الماركر الفردى:

يمكن حساب الاحتمال الشرطى بمثال:

فـــى نظـــام F2 (الناتج من خلط خطين اصيلين (MMQQ* mmqq) ماركر أحـــادى وكيوتى إل أحادية مرتبطة مع الماركر، وكان معدل التوافيق الوراثية هو بينهما هو c ، تصبح القيمة المتوقعة لتكرار الجاميطات هو:

$$Pr(MQ) = Pr(mq) = (1-c)/2 \quad , \quad Pr(Mq) = Pr(mQ) = c/2$$

وان احتمال فرد من F2 تركيبه

$$Pr(MMQQ) = Pr(MQ).\, Pr(MQ) = \{(1-c)/2\}^2$$

$$Pr(MmQQ) = 2Pr(MQ).\, Pr(mQ) = 2\,(c/2)\,[(1-c)/2]$$

ويصبح الاحتمال الشرطى للكيوتى إل معطا الماركر كالاتى:

$$Pr(QQ/MM) = (1-c)^2, \; Pr(qq/MM) = c^2, \; Pr(Qq/MM) = 2c\,(1-c),$$

$$Pr(QQ/Mm) = c\,(1-c), \; Pr(Qq/Mm) = (1-c)^2 + c^2, \; Pr(qq/Mm) = c(1-c),$$

$Pr (QQ/mm) = c^2$, $Pr (Qq/mm) = 2c (1-c)$, $Pr (qq/mm) = (1-c)^2$

حساب تأثير الكيوتى إل :

كما يمكن حساب تأثير الكيوتى إل بمثال:

فــى نظــام F2، ماركر أحادى وكيوتى إل احادية مرتبطة مع الماركر وكان معدل التوافيق الوراثية هو بينهما هو c

لو رمزنا لقيمة الجينوتيب للكيوتى إل

$$\mu_{QQ} = \mu + 2a\ ,\ \ \mu_{Qq} = \mu + a\ (1+k) \text{ and } \mu_{qq} = \mu$$

حيــث أن a هـــى مقياس للقيمة التجمعية وقيمة k هى مقياس لدرجة السيادة وبتطبيق الاحتمال الشرطى تصبح قيمة

$$\mu_{MM} = \mu + 2a\ (1-c)^2 + 2c\ (1-c)\ (1+k)\ a$$

$$\mu_{Mm} = \mu + 2a\ c\ (1-c) + [(1-2c(1-c)] + (1+k)\ a$$

$$\mu_{mm} = \mu + 2a\ c^2 + 2c\ (1-c) + (1-c)\ (1+k)\ a$$

ولــو كــان الماركر والكيوتى إل غير متشابهين (c =) وأن كل الماركر لها المتوسط نفسه {($\mu + a\{(1+k/2$) وبترتيب المعادلات نجد أن

$$a^* = (\mu_{MM} - \mu_{mm})/2 = a(1-2c)$$

$$K^* = \{\mu_{Mm} - (\mu_{MM} + \mu_{mm})/2\} / \{(\mu_{MM} - \mu_{mm})/2\} = k\ (1-k)$$

وان قيمة a^*، K^* هى تقدير لقيمة k, a.

لــو كان هناك N كيوتىإل مرتبطة للماركر، تكون ال i^{th} كيوتىإل والتى لها معدل توافيق c من الماركر، ويكون لها تاثير تجمعى وتاثير سيادى a_i, k_i

$$(\mu_{MM} - \mu_{mm})/2 = \ = \sum_{i=1}^{N} a_i^*$$

$$\{\mu_{Mm} - (\mu_{MM} + \mu_{mm})/2\} / \{(\mu_{MM} - \mu_{mm})/2\} = \sum_{i=1}^{N} a_i^* k_i^* / \sum_{i=1}^{N} a_i^*$$

$$a^* = a_i\ (1 - 2c_i)\ ,\ k_i^* = k_i\ (1-2c_i)$$

تحليل الماركرز المتعددة Multiple Marker Analysis:

عـند تحلـيل الماركـرز المتعددة يتم تحديد أزواج من الماركرز القريبة من بعضـها والتي كل زوج منها يحيط بالكيوتي إل Putative Markers، ويعتمد هذا الـنظام علـى أنـه لموقـع معين (مسافة 1cm) في الخريطة الوراثية يتم حساب الإحتمال الشرطي Conditional Probability أن يتوارث النسل إحدي الجاميطات لهـذا الموقـع مشـروطا علي الماركرز Marker Genotype، ثم يتم إدماج هذا الاحـتمال الشرطي في إحدي الطرق ألأحصائية مثل الحدبة العظمي، أو أقل فرق للمربعات. طبقا للخطوات التالية:

١ – بناء جاميطات الطلوقة:

بعـد تحديـد الطلوقة الخليط للماركرز، وإستبعاد الماركرز غير المعلوماتية الاصيلة والمثال التالي يوضح ذلك:

طلوقة لها التركيب الوراثي Aa BB Cc dd EE Ff
الطلوقة له 100 بنت نصف شقيقة وأن

عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل A and C or a and C = 6
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل A and C or a and C = 17
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل C and F or C and F = 15
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل C and F or C and F = 10

وتصبح إعادة بناء جاميطات الطلوقة هي:

Gamete 1 A C F
Gamete 2 A C F

تركيب النصف شقيق الأول HS1 AA cc ff
تركيب النصف لشقيق الثانى HS2 AA cc ff

المطلوب حساب إحتمال توارث الاليْل من الطلوقة للجاميطة 1 للكيوتي إل Q علـي بعـد 30 cM من الماركر A وأن المسافة بين كل أثنين من الماركرز هي 20 cM:

معـدل التوافيق الوراثية كدالة في المسافة بين الماركرز $r = 0.5\ (1-e^{-2m})$.
حيث m تمثل المسافة بين الماركرز وتمثل r معدل التوافيق الوراثية.

٢- حساب الاحتمال الشرطى Conditional probability فى الماركرز المتعددة:

ويمثل الجدول التالي الإحتمال الشرطي، إذا كان لكل ماركر أليلين والتي تنعزل بتكرار متساوى

النسل Offspring	الاحتمال الشرطى Conditional Probability	قيمة الاحتمال Probability
HS1	(1-rAQ) (1-rQC)/(l-rAC)	0.97
HS2	RAQ (l-r QF)/rAF	0.50

ويصبح الاحتمال الشرطي للجاميطتين لكل المواقع في المجموعة المرتبطة وراثيا هو 5. كما الحال فيHs2.

٣- حساب الحدبة العظمى Maximum Likelihood :

$$L=\prod_{i=1}^{s}\left\{p\prod_{j=1}^{ni}\frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}}\exp\left(\frac{-z_{ij}^2}{2\sigma_w^2}\right)+\frac{(1-p)}{2}\prod_{j=1}^{ni}\frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}}\right.*$$

$$\left[m_{ij}\exp\left(\frac{-(Z_{ij}-\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right]+(1-m_{ij})\exp\left(\frac{-(Z_{ij}+\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right)+\right.$$

$$\frac{(1-p)}{2}\prod_{j=1}^{ni}\frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}}\left[m_{ij}\exp\left(\frac{-(Z_{ij}+\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right)+(1-m_{ij})\exp\left(\frac{-(Z_{ij}-\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right)\right]$$

حيث أن Z_{ij} تمثل القيمة المظهرية للسجل محسوبة كانحراف من متوسط مجموعة أنصاف الاشقة للطلوقة i وللنسل j بينما تمثل m_{ij} الاحتمال الشرطى Conditional Probability بان النسل j يورث الجاميطة 1 من الطلوقة i عند موقع الدراسة وان الطلوقة i له ni من النسل.

هنا نجد أن الحدبة العظمى للكيوتى إل لمكان معين يتطلب ثلاث ثوابت هي:

١- معدل تكرار الطلائق الأصيلة عند موقع الكيوتي إل (P).

٢- تأثير استبدال جين الكيوتى إل Subsitutian Effect of QR.

٣- تبايـــن الخطـــأ σ^2_w. وان المعادلة السابقة تعطى تقدير تقريبى للثوابت، وإن الـــتقدير الادق يحتاج الى استخدام إى أم الجورثيم EM algorithm وسوف يأتي شرحه لأحقا.

٤

الباب الرابع
الماركر وخرائط المسافات

الباب الرابع

الماركز وخرائط المسافات

Marker and Interval Mapping

يعـــتمد هذا التحليل علي معرفة تكرار زوج من الماركرز القريبة من بعضها والتـــي تحصـــر بينها كيوتي إل فمثلا لوكان هناك أثنين من الماركرز A, B تقع بيـــنهما كيوتي إل وكانت المسافة بين الماركر A والكيوتى إل q هي r_1 والمسافة بيـــن الماركر B والكيوتي إل q هى r_2 وان وضع الكيوتى إل بين الماركرز يمكن تمثـــيله بالوضـــع النسبى بين الماركرز A,B حيث أن $P_1= r_1/r$ وأن $1-P_2=r_2/r$. وأن $r = r_1+ r_2 - 2r_1r_2$ أو أن $r = r_1 + r_2$ عـــند عـــدم حـــدوث عـــبورمزدوج Double Crossing Over ولـــو كـــان هناك ثلاثة مواقع A, B, C مرتبطة وراثيا وتصـــبح قـــيم التوافـــيق الوراثـــية هى r_{AB}, r_{AC}, r_{CB} نتيجة للعبور وتصبح قيمة $r_{AC} = r_{AB} + r_{CB} - 2\, r_{AB}\, r_{CB}$ حيـــث أن $r_{AB}\, r_{CB}$ هـــي القـــيمة المـــتوقعة للعبور المـــزدوج أي العـــبور بيـــن A,B وكذلـــك العبور بين B,C معا. وتنحرف القيمة الملحوظة عن القيمة المتوقعة حيث يمكن قياس هذا الانحراف بمعرفة قيمة التداخل Interference حيـــث تصبح قيمة $AC = r_{AB} + r_{CB} - 2C\, r_{AB}\, r_{CB}$ حيث ان C هي معـــامل المصـــادفة Coincidence وأن C-1 هي معامل التداخل Interference وعـــند عـــدم وجود التداخل تصبح قيمة صفر = C-1 وتصبح قيمة C=1 وتصبح قـــيمة $r_{AB}\, r_{CB} = 2C\, r_{AB}\, r_{CB}$. والـــتداخل يرجع إلي التداخل بين A, B من ناحية وبين B ,C من ناحية أخرى.

معادلة المسافات في الخريطة الوراثية Distance of Genetic Map:

لـــو رمـــزنا لمعدل حدوث العبور بالرمز λ عندئذ يصبح أحتمال عدم حدوث العبور بالرمز $e^{-\lambda}$

P (non Crossover) = $e^{-\lambda}$، واحـــتمال حـــدوث العـــبور هـــو $e^{-\lambda}$ P(Crossover) = 1-

ويصبح عدد التوافيق الوراثية المتوقعة $r = .5\,(1-e^{-2m})$

وتصـــبح قيمة Haldane Distance (m) $m = -.5\ln(1-2r)$ حيث أن r معدل التوافيق الوراثية.

والضـــرب في 5. يرجع الى انه عند حدوث عبور واحد في حالة وجود زوج مـــن الكروموســـومات المتشابهة، ينتج عن ذلك نصف العدد من الجاميطات ذات التوافـــيق الوراثـــية ويمكن باستخدام طريقة هالدين Haldane معرفة المسافة بين الجينات علي الخريطة الوراثية.

تحديد مواقع الكيوتي إل بإستخدام خرائط المسافات للماركرز:

الإنحدار الخطى:

يستخدم الإنحدار الخطى للقيم المظهرية Phenotype للأفراد على القيم الوراثية Genotype وهـــى إحدى الطرق التي تعطى ثوابت لها خصائص الثوابت المحسوبة من الحدبة العظمى Maximum Likelihood

ويمكن أن تستخدم المعادلة الخطية $_i = a + b\, g_i + e$

حيث أن قيمة gi هي قيمة دلالية Indicator تأخـــذ قيم (0, 1) لوجود أو عدم وجـــود الماركر وقيمة b ترمز الى تقدير التأثير المظهري لاستبدال الاليل الفردى لقيم الكيوتي إل ويكون الحل لنموذج الانحدار السابق هو تقدير الثوابت

$(\hat{a},\hat{b},\hat{\sigma}^2)$ وهى تقديرات لقيم الحدبة العظمى $L\,(a,b,\sigma^2)$

حيث أن $L\,(a,b,\sigma^2) = \Pi^i\; Z\,((_i - (a + b\,g_i)),\ \sigma^2)$

$$z(x,\sigma^2) = 1 \Big/ \left(\sqrt{(2\Pi\sigma^2)}\,\exp\left(-x^2 \big/ 2\sigma^2\right)\right)$$

وان قيمة LOD تستخدم لتحديد وجود الكيوتى إل من عدمه فمثلا في الخلط الرجعي Backcrossing وتصبح قيمة

$$LOD = LOG_{10}\left(L(\hat{a},\hat{b},\hat{\sigma}^2) / L(\hat{\mu}_A, 0, \hat{\sigma}^2_{B1})\right)$$

حيث إن σ^2، تباين e ، σ^2_{B1} تباين النسل الناتج من الخلط الرجعي للسلالتين A,B مع أحد الأباء $A^*(A^*B)$ أو $B^*(A^*B)$

ولـــو أن قيمة LOD > T حيث أن قيمة T هي قيمة حدية Threshold value محـــددة مســـبقا. وتتوزع قيمة $LOD \sim \chi^2$ بدرجة حرية واحدة ويمكن اختيار القيمة الحدية Threshold (T) من المعادلة :

$T = 1/2(\log_{10} e)(Z_\alpha)^2$ حيث أن قيمة $\alpha = .5$.

LOD=logarithm of ODD وهـــو تقديـــر إحصائى يستخدم للاستدلال علي وجـــود الكيوتـــي إل من عدمه. المكان الذى له LOD عالى وموجب يكون الاكثر احتمالية لوجود الكيوتي إل. وهنا يجب أنه يتم تحديد إرتباط إحصائي بين الماركر والكـــيوتى إل، ولم نجد الجين نفسه وهناك مصادر ممكن أن تؤدي لحدوث الخطأ في تحديد الاستدلال الإحصائي لوجود الكيوتى إل:

١- مـــن الممكن أن يتواجد أثنين أو أكثر من الكيوتي إل ولهم إشارة التأثير نفسها (positive or negative effects) أى كيوتىإل فى حالة Coupling. وهنا لا يمكن للتحليل الإحصائى أن يكشف عن وجود كيوتي إل واحدة فى وسط أثنين مـــن الكيوتي ال الحقيقية. وهذا ما يعرف بالكيوتي إل الشبح Ghost QTL وهو ما ينتج عنه خطأ من النوع الأول Error of Type I. والخطأ من النوع الأول يحـــدث نتيجة للاستدلال علي وجود موقع للكيوتي إل حيث لا توجود كيوتي إل حقـــيقة وهو ما يعرف بالموجب المزيف False Positive. وعند حدوث خطأ في عدد الكيوتى إل ينتج ما يسمى بالخطأ من النوع الثاني TypeII.

٢- الكـــيوتىإل الرئيسة غير المرتبطة تضخم قيمة التقدير الاحصائى. وقد يحدث إرتـــباط عفـــوي نتيجة للإنحراف من القيمة المتوقعة لنسبة الإنعزال الوراثى لاى زوج مـــن المواقع على الجينوم. وهذا يحدث نتيجة وجود عشائر صغيرة أو وجـــود اى خلـــل غير متوقع فى الانعزال الوراثي. ويؤدى هذا أيضا إلي ظهور الكيوتي إل الشبح Ghost QTL.

٣- لو كان هناك اثنين من الكيوتى إل ولهما عكس الإشارة QTL in Repulsion Phase عندها يصبح التأثير لهما معا قريبا من الصفر.

٤- تحديـــد مواقـــع الكيوتي ال في خرائط المسافات هو تحديد متوسط تاثير كل الكيوتي إل الموجودة في المنطقة من الكروموسوم تحت الدراسة وليس هناك طرقة لفصل تأثير كل كيوتي ال علي حدة والتأثير الملاحظ هو مجموع تاثير كل الكيوتي ال الصغيرة التاثير معا ولو أمكن إجراء التجربة عدة مرات لنجد قمم قصوي لقيم LOD في موقع مختلف عن الموقع السابق.

٥- لوان المحتوى المعلوماتي Information Content منخفضا فى المنطقة التى تحتوى علي الكيوتي إل نجد أن القمة تتجه الى المنطقة الأكثر معلوماتية.

تحديـد عدد الكيوتى إل المرتبطة وراثيا مستخدما الإنحدار القياسى لماركر-الصفة:-

$Z_j = \mu + \sum_{k=1}^{n} b_k x_{kj} + e_j$ حيـث j ترمز لعدد الأفراد، b_k هو معامل الإنحدار والـذى مـنه يمكن معرفة إذا كان الماركرز تحصر كيوتى إل. أيضا b_k يمكن ان تظهر التقدير المباشر لتأثير الكيوتى إل وموقعها.

مثال :

فـى تجربة محاكاة Simulation ل 2000 فرد من F_2 لثلاثة كروموسومات على مسافات متساوية 25 CM

CM ($c \approx .02$) لمعادلة هالدين). الكيوتىإل وضعت على مسافات بين الماركرز (2, 1), (5, 4), (8, 7), (14, 13), (15, 14). وكان تقدير معاملات الإنحدار المتعدد ل 15 ماركرز هى كالآتى:

marker	1	2	3	4	5
bi	-0.2996	-0.1422	-0.0221	0.2209	0.1956
marker	6	7	8	9	10
bi	-0.00189	-0.1922	-0.2404	0.01	-0.0108
marker	11	12	13		14
bi	-0.0254	0.0371	0.3019	0.2644	0.337

لـو نظـرنا لكل زوج من معاملات الانحدار القريبة والتى لها الإشارة نفسها وكان كلاهما معنويا ويختلافا عن الصفر

ممـا يعـنى وجود كيوتىإل فى المسافات ,(2, 1), (5, 4), (8, 7), (14, 13) .(15, 14)

والانحـدار باسـتخدام التسـعة ماركرز يعطى SSE نفسه للانحدار الكامل مسـتخدما 15 ماركرز مما يشير الى انه ليس من الماركرز التى إستبعدت قريبة مـن الكيوتى إل. (أو قريبا من ا لكيوتى إل المتعددة المرتبطة والتى تأثيرها أزال بعضها البعض)

لكـن إسـتبعاد اى مـن التسعة ماركرز ينتج عنه معاملات إنحدارلها SSE معـنويا (اى وجود مجموع مربعات للخطا معنويا) مما يؤيد النظرية الفرضية بان

كـــل هـــذه المـاركـــرز قريبة من الكيوتى إل وبإستخدم هذه التسعة ماركرزتصبح معاملات إنحدار هى:

marker	1	2	4	5
bi	-0.2975	-0.1323	0.2296	0.1962
marker	7	8		
bi	-0.2407	-0.2377		
marker	13	14	15	
bi	0.3145	0.264	0.3355	

ولوجـــود كيوتى إل معزولة فى المسافات (8, 7), (5, 4), (2, 1) معزولة (لا يوجد دليل للكيوتى إل فى المسافات القريبة) يمكن تقدير تاثير وموقع هذه الكيوتى إل من المعادلة الآتية:

عـــند وجود كيوتى إل لها تأثيرا تجمعيا ووجود معاملات الإنحدار للماركرز المحاصـــرة للكـــيوتى إل regression coefficients for the flanking markers والتى يمكن أن تستخدم مباشرة لتقدير تاثير وموقع الكيوتى إل كالآتى:

لو فرضنا أن الماركرز $i, i+1$ تحصر كيوتى إل معزولة فى عشيرة ال F2، تكون المسافة من الماركر i إلى الكيوتى إل هو :

حيث :

$$c_i = .5\left[1-\sqrt{1-\frac{4b_{i+1}\theta_i(1-\theta_i)}{b_{i+1}+b_i(1-2\theta_i)}}\right]$$

حيث أن $\theta_i = c_{i,i+1}$ هى المسافة بين الماركرز.

وتقديـــر التأثير التجمعى للكيوتىإل a مستقلا من تأثير السيادة عند الكيوتىإل هو

$$a^2 = \frac{[bi+(1-2\theta_i)b_{i+1}][b_{i+1}+(1-2\theta_i)b_i]}{1-2\theta_i}$$

حيث أن كلا من b_{i+1} , b_i لها الإشارة نفسها مثل إشارة a.

وبتطبيق المعادلات السابقة نجد أن:

$$c_1 = .5\left[1-\sqrt{1-\frac{4(-.1323).2(1-.2)}{(-.1323)+(-.2975)(1-2.02)}}\right] = .74$$

$$a_1^2 = \frac{\left[(-.2975)+(1-2.02)(-.1323)\right]\left[(-.1323)+(1-2.02)(-.2975)\right]}{1-2.02}$$

$$= (.442)^2$$

ای $a_1 = -.442$

كذلك الكيوتی إل فی المسافة للماركرز (4, 5) نجد ان قيم $b_1, b_2 < 0$

$C_4 = .105 \& a_4 = .446$ وان الكيوتی إل فی المسافة (7, 8) نجد ان $a_7 = -.494 \& C_7 = .112$

ويلاحظ ان القيم المقدرة تقترب من القيم الحقيقية التی إستخدمت فی تجربة المحاكاة Simulation حيث كانت القيم هی:

$C1 = .07 \& C4 = .11 \& C7 = .11, \& a7 = -a_4 = -a_1$

٥

الباب الخامس
خرائط المسافات لموقع الكيوتىإل
فى الخرائط غير المكثفة

الباب الخامس

خرائط المسافات

لموقع الكيوتى إل فى الخرائط غير المكثفة

وهـنا يـتم تحديـد الحدبة العظمي لكل كيوتى إل (المحصورة بين أثنين من الماركـرز) في كل موقع من الجينوم بينما الكيوتي إل التي تتواجد في موقع أخر علـي الجيـنوم يكـون لها تاثير تداخلى مما يؤدى لحدوث تحيزا في موقع وتأثير الكيوتـي إل. وتستخدم هذه الطريقة عندما تكون الخريطة ليست مكثفة Sparse or Not Dense Map حيـث نقدر الحدبة العظمى للكيوتي إل عند مواقع متعددة داخل المسافة المحصورة بين الماركرز للحصول على ما يسمى البروفيل Profile للحدبة العظمى للكيوتي إل QTL Likelihood Profile ويوضح المثال التالي:

خطوات تحديد موقع الكيوتى إل :

إسـتخدام خـرائط المسافات وحساب الحدبة العظمى لتحديد موقع الكيوتي إل وتأثـيرها فـى عشـائر القطعان لماشية الحليب، وذلك باستخدام عائلات أنصاف الاشقة باستخدام نظام الحفيدة وهنا نحتاج إلى الخطوات التالية:

١- **معرفة عدد الطلائق وعدد الأبناء الذكور لكل طلوقة:**

ونسـبة تباين الكيوتى إل إلى التباين المظهرى وأخيرا يجب معرفة المسافات بين الماركرز والكيوتى إل ومن هذه المسافات يمكن معرفة معدل التوافيق الوراثية r1,r2,r ومنها يمكن حساب الاحتمال الشرطى للاليلات Conditional Probability معطـيا نـوع الجامـيطات للماركز التى تحصر الكيوتي إل. الطلائق ليست بينها علاقات نسب Unrelated و أنها خليطة لكل مواقع الماركرز.

مثال فى إحدى التجارب تم استخدام 6 طلائق هولستين وكل طلوقة لها ما بين 71-74 (n=433) ابنا. لذلك توافر 6 عائلات، وبالتالى 6 تأثير استبدالى للكيوتى إل QTL Substitution Effects. وحـدد الجينوتيـب Genotyping للطلائق الاباء Sires وللابناء Sons لعدد 69 مايكروستاليت ماركرز موزعة على 12 كروموسوم هـى علـى الترتيـب (1, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 15, 17, 20, 26, 23) ومسـحت الماركـرز مسافة 867.4 cM من الجينوم وكان هناك 9-2 ماركرز للكروموسوم.

عـــدد الاليلات الملاحظة لكل ماركرز تراوح بين 15-2 اليل وتم مسح الجينوم لكل 1 cM مسافة بين الماركرز.

كـــان المتوســـط والانحراف المعياري للقيم المظهرية للصفات تحت الدراسة. خمسة صفات متوسطهم ,(16 ± 3.7) ,(11.9 ± 9.6) ,(15.2 ± 9.8) ,(408 ± 275) (0.06 ± 3.19) وهـــى صفات كمية الحليب ومحصول الدهن ومحصول البروتين ونسبة الدهن ونسبة البروتين مثلا. ويتوافر الآن نوعين من البيانات هما:

١- الملاحظات المظهرية عن الصفات الكمية.
٢- معلومـــات عـــن الماركـــرز التى تم تحديدها عن طريق المايكروستاليت. تم استخدام النموذج التالي:

٢- النموذج الإحصائي والافتراضات:

لو كانت قيمة الملاحظة Y_{ij} للابن j ‎(1, ...,ni) = j‎ للطلوقة i ‎(1, ..,k) = i‎ يمكن التعبير عنها بالنموذج الاحصائى التالي:

$$Y_{ij} = X'_{ij} B + \varepsilon_{ij} Z'_{ij} a + e_{ij} \qquad (1)$$

متجه العوامل المحددة vector of fixed effects ويمكن أن يشمل المتوسط العام ومتوسط عائلات انصاف الاشقة = B

صف row vector للمصفوفة X المناظر ل Y_{ij} = x'_{ij}

متجه لعمود column vector لتأثير الكيوتي إل (α = (a1,a2, ..ak

صف row vector للمصفوفة Z المناظر ل Y_{ij} = z_{ij}

ε_{ij} = دليل لمتغير وهذا الدليل (=1) لو تورث الأبن الأليل Q_i^1 من الطلوقة i والدليل (= صفرا) لو تورث الأبن الأليل Q_i^2 من الطلوقة i.

$E_{ij} \sim N(0, R\sigma^2)$

DYD = Yij أو تمثل القيمة التربوية.

Daughter Yield Deviation = DYD وهـــى تمـــثل مظهر البنات مصححًا لقـــيمة العوامـــل المحـــددة والتأثـــيرات العشوائية غير الوراثية للبنات والتأثيرات الوراثية للأمهات.

قيمة الاعتماد = r_{ij} أو هى reliability

وقيمة (σ^2_{ij}) هي $\sigma^2_{ij} = \sigma^2 / r_{ij}$. & $R=diag(1/r_{ij})_{n*n}$ وقيمة $N=\sum_{i=1}^{k} n_i$
& وقيمة $r_{ij} = (1+.25\,(m-1)/h^2)/m_{ij}$ وقيمة m_{ij} تمثل عدد البنات المستخدمة في حساب قيمة DYD للابن ij. الطلائق غير مرتبطة وتزاوجت عشوائيا مع الأمهات.

٣- حساب الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتي إل معطا نوع الجاميطة للماركرز التى تحصر الكيوتي إل:

Marker(M)	Pr(M)	Pij=Pr(Q1/M)	1- Pij=Pr(Q2/M)
M_1N_1	(1-r)/2	$(1-r_1)(1-r_2)/(1-r)$	$r_1r_2/(1-r)$
M_1N_2	r/2	$(1-r_1)r_2/r$	$r_1(1-r_2)/r$
M_2N_1	r/2	r1(1-r2)/r	$(1-r_1)r_2/r$
M_2N_2	(1-r)/2	$r_1r_2/(1-r)$	$(1-r_1)(1-r_2)/(1-r)$

معدل التوافيق للكيوتي إل مع الماركرز ١&٢ هو r_1,r_2 بينما r هى معدل التوافيق بين الماركرز التى تحصر الكيوتى إل

٤- حساب الحدبة العظمى للثوابت :

عند وجود بيانات الماركرز والملاحظات المظهرية كما هو موضح فى الخطوة (1) تصبح قيم الحدبة العظمى للثوابت Likelihood of the Parameters (β, α ، σ^2) كما هى فى المعادلة (2):

$$L(\beta,\alpha,\sigma^2/y,M)=\prod_{l=1}^{k}\prod_{j=1}^{mi}(2\pi\sigma^2_{ij})^{-1/2}\{P_{ij}\exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2_{ij}}(Y_{ij}-X'_{ij}\beta-\alpha_i)^2\right] \quad (2)$$
$$+(1-P_{ij})\exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2_{ij}}(Y_{ij}-X'_{ij}\beta)^2\right]\}$$

حيث أن P_{ij} هو الاحتمال الشرطى للابن ij انه تورث الاليل الأول من الطلوقة مستدلا عليه من معلومات الماركرز. وانه لكل مكان كيوتي إل اختبرت نجد ان P_{ij} حسبت من اقرب زوج من الماركرز المعلوماتية Informative

Markers للابــن j للطلوقة i وتستخدم معادلة (هالدين) لتحويل المسافات الوراثية الى معدل توافيق وراثية.

٥- استخدام إى إم الجوريثم EM algorithm لتقدير ثوابت الكيوتى إل:

وهنا يعامل الكيوتى إل جينوتيب كبيانات غائبة Missing Data ويستخدم الالجوريــثم EM لحساب الحدبة العظمى للاحتمال الشرطى المتوقع للوغارتيم الحدبة العظمى للبينات الكاملة مع أخذ البينات الغائبة فى الاعتبار فى المعادلة :(4)

The Conditional Expectation of the Log-likelihood for the Complete Data with Respect to Missing Data

$$Q(\theta / \overset{|t|}{\theta}) = \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{ni} \{ \left(\log \left[\phi \left(Y_{ij} / \beta, \alpha, \sigma^2 \right) P_{ij} \right] \pi_{ij}^{|t|} \right)$$

$$+ \log \left[\left[\phi \left(Y_{ij} / \beta, \sigma^2 \right) (1 - P_{ij}) \right] (1 - \pi_{ij}^{|t|}) \right] \} \qquad (3)$$

Where

$$\pi_{ij}^{|t|} = P_{ij}\, \phi \left(Y_{ij} / \overset{|t|}{\beta}, \overset{|t|}{\alpha}, \overset{2|t|}{\sigma} \right) / P_{ij}\, \phi \left(Y_{ij} / \overset{|t|}{\beta}, \overset{|t|}{\alpha}, \overset{2|t|}{\sigma} \right)$$

$$+ (1 - P_{ij})\, \phi \left(Y_{ij} / \overset{|t|}{\beta}, \overset{2|t|}{\sigma} \right) \qquad (4)$$

وبتفاضل قيمة $Q(\theta / \theta^{|t|})$ يمكن الحصول علي أعلي قيمة Maximization والتى تؤدى الى حساب الثوابت من المعادلات التالية

$$\begin{bmatrix} X'R^{-1}X & X'R^{-1}U' \\ U'R^{-1}X & Z'R^{-1}U \end{bmatrix}^{t} \begin{bmatrix} \beta^{|t+1|} \\ \alpha^{|t+1|} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'R^{-1}y \\ U'R^{-1}y \end{bmatrix} \qquad (5)$$

$$\sigma^{2|t+1|} = 1/N(Y - X\beta^{|t+1|})' R^{-1}(Y - X\beta^{|t+1|}) +$$

$$\alpha^{|t+1|} Z' R^{-1} U^{|t|} \alpha^{|t+1|} - 2(Y - X\beta^{|t+1|})' R^{-1} U^{|t|} \alpha^{|t+1|} \qquad (6)$$

$$U^{|t|} = \{ \pi_{ij}^{[t]} Z'_{ij} \}_{N*K}$$

المصفوفة U = المصفوفة Z مع استبدال العناصر ١ فى الصف z_{ij} بالعناصر π_{ij}. ويلاحظ ان الاحتمال الشرطى المتقدم π_j Posterior Probability يتم حسابه فــى الخطــوة E بيــنما يــتم حســاب الثوابت $(\beta, \alpha ، \sigma^2)$ فى الخطوة M من الألجوريثم من المعادلة 5, 6. وقيمة $|t|$ ترمز إلى رقم الدورة الحسابية Iteration Cycle.

$(Y_{ij}/ \beta ,_{\alpha}, \sigma^2)$ هــى معادلــة الكثافة Density Function للبيانات Y_{ij} معطا الثوابت $(\beta ، \alpha ، \sigma^2)$.

٦- **تقدير قيمة اللود LOD :**

يســتخدم LOD كمــا ســبق ذكره لتحديد وجود الكيوتى إل فى المكان تحت الإختــبار حيث قيمة LOD المرتفعة فوق القيمة الحدية Thresholdهو دليل وجود الكــيوتى إل. ويســتخدم LOD لاختبار وجود الكيوتى إل تحت النظرية الفرضية Null Hypothesis (H_0) أن $\alpha i = 0$ حيــث $i=1,2, \ldots,k$ يعنى لا وجود للكيوتي إل الــتى تــنعزل عــند مكان الإختبار. بينما النظرية البديلة هو علي الاقل وجود واحدة من تأثير كيوتى إل لطلوقة معنوية وتنعزل عند مكان الاختبار. ويمكن كتابة LOD Score :

$$LOD = LOG_{10}L(L(\hat{\beta},\hat{\alpha},\hat{\sigma}^2) - LOG_{10}(\hat{\beta}_0,\hat{\sigma}_0)$$

حيث أن الحدبة العظمى للثوابت تحت النظرية الفرضية هى:

$$\hat{\beta}_0 = (X'R^{-1}X)^{-1}X'R^{-1}Y$$

$$\hat{\sigma}^2_0 = 1/N(Y - X'\hat{\beta}_0)'R^{-1}(Y - X\hat{\beta}_0)$$

٧- **تحديد القيمة الحدية:**

القــيمة الحدية المعنوية تحدد تجريبيا باستخدام إختبار التباديل Permutation Test حيــث يكــون هناك نوعان من البيانات البيانات المظهرية (DYD or BV)، وبــيانات الجينوتيب Genotype. وتبقى بيانات الجينوتيب بدون تغيير، بينما يجرى إعــادة تفنــيط Shuffling القــيم المظهــرية للصفة داخل عائلات انصاف الأشقة وبالتالى نضمن عدم وجود مصاحبة coupling أو إرتبط بين الماركرز للمجموعة

المرتــبطة وراثــيا وبين القيمة المظهرية للصفة . يتم إعادة التفنيط مرات ومرات (N=10000) وكــل مرة يتم حساب قيم LOD وبالتالى يمكن عمل توزيع تجريبى للاحصاء المحسوب فى وجود النظرية الفرضية بعدم وجود كيوتي إل. يتم حساب القيمة الحديــة للكروموسوم chromosomewise critical value α = 1%، 5%، 10% بــاخذ قــيمة الكونتيل quantile 90, 95, 99 من التوزيع التجريبى للاختبار الاحصـــائ المناظرة لقيم α Test Statistics وللوصول للجينوم الكامل له عدد n مـــن الكروموســـومات يستخدم تصحيح بنفرونى Benferroni Correction حيث $Pgenomewise = 1 - (1- Pchromosomewise)^n$.

وأظهـــرت بعـــض النتائج للتحليل السابق انه على الكروموسوم رقم 1 توجد كـــيوتىإل لمحصول البروتين تقع بين الماركر BM4307 والماركر INRA003، وكانـــت هـــناك كيوتىإل على الكروموسوم رقم 3 لنسبة البروتين تقع بين الماركر FCGR والماركـــر INRA023 . ووجد أيضا كيوتىإل على الكروموسوم رقم 3 لمحصـــول الحليـــب حول الماركر INRA003.كيوتىإل لمحصول الحليب وجدت علـــى الكروموســـوم 6 حـــول الماركر BM415 . وكان هناك كيوتىإل لمحصول البروتيـــن علـــى الكروموســـوم رقـــم 20 عند الموقع 19 cM وتقع بين الماركر TGLA126,BM1225. وكـــان موقع محصول الحليب على الكروموسوم 20 فى مســـافة الماركـــر نفســـها التى تؤثر على محصول البروتين مما يعزى الى تاثير الـــنفاذية علـــى الكـــيوتىإل الفردية او تاثير مشترك لاثنين من الكيوتىإل القريبة والمرتبطة مع بعضها. وعلى الكروموسوم 26.

وأظهر LOD Profile انه وصل لأعلى قيمة له على الموقع الأخير للماركر لمحصول الدهن (P=.010).

٦

الباب السادس

تحليل الإرتباط الوراثى

الباب السادس

تحليل الإرتباط الوراثى Linkage Analysis

لرسـم الخـريطة الوراثـية لـتحديد موقع الكيوتى إل يتم مسح وراثي للجينوم باسـتخدام تحلـيل الإرتباط الوراثي Linkage Analysis ويتم تحديد موقع الماركرز علـي الكروموسومات وذلك لكل من جيل الأباء والأبناء ثم يتتبع انتقال اليلات الجين المعلـم (الماركر) من الأباء إلي الأبناء . ووجود فروق معنوية في القيمة المظهرية للصـفة بيـن مجموعـات النسـل التى توارثت الأليلات المتقابلة للماركر من الأب المشـترك يـدل علي وجودارتباط وراثي Linkage بين الجين الماركر والكيوتي إل التـي تؤثـر في الصفة. وعموما احتمال تحديد الماركرز والكيوتى إل بهذه الطريقة يكـون منخفضا وذلك لوجود مسافات متباعدة بين الماركرز نفسها. وتحديد عدد اكبر مـن الماركرز نفسها علي الكروموسومات لايزيد من دقة تحديد الكيوتىال إذا كانت المسـافات بيـن الماركرزمتـباعدة وذلك لوجود عدد قليل من التوافيق الوراثية لبعد المسافات بين الماركرز المرتبطة بالكيوتي ال والتي يجب أن تكون بين 2-1 cM.

وتحلـيل الإرتباط الوراثي هو تحليل الإعتمادية Analysis of dependence أو تحلـيل عـدم الإستقلالية فى وراثة الجينات على المواقع الوراثية المختلفة بناءً علي التحليل المظهرى للأفراد التى تعرف بينها علاقات نسب Pedigree Relationship. والإعـتمادية بيـن الجينات على المواقع الوراثية المختلفة تعكس Synteny للمواقع المخـتلفة وتعتـبر درجة الإعتمادية او عدم الإستقلالية مقياسا للمسافات بين المواقع الوراثية المختلفة.

وعـند توافر الماركرز فى خريطة وراثية معينة وفى حالة إعتماد توارث صفة معيـنة على مجموعة من الماركرز يمكن تحديد المواقع الوراثية للصفة او الإستدلال عليها Inferred . ويعتمد التحليل الوراثى اساسا علي نظرية الإحتمال Probability Theory والإحصاء الإستدلالي Statistical Inference. بمعنى أخر تحليل الإرتباط الوراثـى هـو التحليل الإحصائى للبيانات الوراثية ومن اهم خطوات هذا النوع من التحليل هو معرفة معدل التوافيق الوراثية Recombination Rate الناتج عن حدوث العـبور بين المواقع الوراثية المختلفة والتى يزداد معدله كلما بعدت المسافة بين تلك المواقـع الجينية. ويكون معدل العبور أقل من النصف ($r < .5$) عند وجود درجة من الارتباط Linkage بين اى موقعيين على الكروموسوم. وفى المواقع القريبة جدا من

بعضها يكون معدل التوافيق (صفرا r=). وفى المواقع البعيدة تماما عن بعضها يكون معدل العبور (r = 0.5). ويتم حساب معدل التوافيق الوراثية حتى يتم ترتيب المواقع الوراثية للصفة تحت الدراسة حيث فى النهاية يتم تحديد المواقع الوراثية فى ترتيبها الصحيح فى الخريطة الوراثية.

أنواع التصميمات المستخدمة لمعرفة الماركرز فى تحليل الارتباط الوراثى:

١- إستخدام عشائر F2 من خلط عشيرتين من F1 أو إستخدام الخلط الرجعى وذلك بخلط احد الابوين مع F1 وتتيح هذه الطريقة تحديد الكيوتى إل التى ثبتت فى أحد الانواع.

٢- إستخدام نظام عائلات أنصاف الاشقة حيث ان الطلائق الخليطة للماركرز تتزاوج مع عينة عشوائية من الإناث ويجرى الجينوتينبج على النسل كله AI progeny genotyped.

٣- إستخدام نظام الحفيدة حيث أن أباء الطلائق وأبنائهم تُقيم باستخدام الاختبار بالنسل. ويجرى لها الجينوتيبنج، والتصميم الاول مهم فى تحديد الكيوتى إل الثابتة والمحددة في أحد الانواع. بينما التصميمان 2 و3 مهمان فى تحديد التنبأ الكيوتى إل والتنبأ بها داخل العشائر.

٤- استخدام الخلط بين الأفراد التى تكون لها مظهر الصفة اوتوليفة الصفات فى الإفراد المتباعدة جدا عن بعضها اى من الافراد التى هى من خطوط منتخبة متنوعة تماما أو الخلط بين العشائر التى لها تباين واسع للصفات الهامة.

وفى العشائر المتباعدة تستخدم فقط الطلائق الخليطة أو الجدود التى لها القوة المعلوماتية فى عزل الماركر أو عزل الماركر والكيوتى إل. وفى العائلات التى يكون فيها الماركر والكيوتىإل فى طور تزاوج اوتجاذب Coupling، نجد ان التاثير الملاحظ لاستبدال الاليل A1 بالاليل A2 يمكن أن ينقص انتاج الحليب بمقدار 500 كجم مثلا، بينما أخرى لو كان الماركر والكيوتى إل فى طور إنفار repulsion يمكن أن يؤدى هذا الاستبدال الى زيادة الحليب ب 500 كجم.

انواع الإرتباط الوراثى :

أولا: الإرتباط المتزن Linkage Equilibrium (LE):

وهو الذى ينتج عنه ثبات تكرار الجينات عبر الاجيال وذلك فى غياب الإنتخاب فى العشائر كبيرة الحجم ويستخدم الإرتباط الوراثى لمعرفة مكان الكيوتىال على

الخـــريطة الوراثية QTL Mapping وذلك بتحديد توارث منطقة من الكروموسوم فـــي البيانات الوراثية واتي يمكن تتبعها باستخدام الماركرز.وحيث وجد ان المنطقة الـــتي تورث يعزى اليها أغلب التباين فى البيانات المظهرية مما يشير الى أن أكثر المـــناطق إرتباطا بالكيوتىال ،أي انه في وجود الارتباط المتزن LE تكون برامج الماركـــرز_المســـاعدة للانتخاب (م أ س) داخل العائلات وهذا يتطلب بيانات كثيرة لـــتحديد طور الارتباط Linkage phase داخل العائلة Within Families. وكذلك فـــي حالة وجود كيوتي ال بعيدة المسافة عن الماركرز، أو في فقد تعقب الماركرز المرتـــبطة بـــال كيوتي ال علي مر الأجيال. ويلاحظ أنه فى ال LE عندما يتسبب الإنـــتخاب الطبيعـــي فـــي تغير تكرار أليل عند موقع معين لايتسبب هذا فى تغير تكـــرار الالـــيل فى المواقع الاخري. لذلك فإن الإرتباط المتزن يكون فيه التفسير والتحليل للتباين الوراثي سهلا وممكنا.

ثانيا: الإرتباط غير المتزن Linkage Disequlibrium (LD):

لتوضـــيح معنى الإرتباط غير المتزن نبدأ أولاً بتوضيح معنى الهابلوتيب وهو فـــرد يحمـــل عـــددا من الاليلات لمواقع متجاورة فمثلا لوكان هناك ثلاثة مواقع A,B,C وكـــان للموقع A الأليلات A_1, A_2, وللموقع B الأليلات B_1,B_2, وللموقـــع الأليلات C C_1,C_2 فمثلا الفرد الذى له الاليلات A_3,B_5,C_2 هو $A_3B_5C_2$ يسمى هابلوتيب Haplotype ويكون تكرار الهبلوتيب $A_iB_jC_k$في العشيرة هو P_{ijk} ويكون تكرار الاليل A_i هو $P_{i..} = \sum_{j.k} P_{igk}$ والاليل B_j هو $P_{.j.}$ والاليل C_k هـــو $P_{..k}$ علـــي التوالي وتصبح قيمة $P_{ijk} = P_{i..}P_{.j.}P_{..k}$ ؛ عندئذ يكون التباين لهذه المواقـــع الثلاثة في حالة إتزان عشوائي وعندما تكون قيمة $P_{ijk} \neq P_{i..}P_{.j.}P_{..k}$ يكون التبايـــن في هذه المواقع الثلاثة فى حالة إتزان غير عشوائي ويسمي هذا الإرتباط غير المتزن أو الطور الجاميطي غير المتزن، أو المصاحبة الأليلية. وفي كثير من العشـــائرالوراثية نجـــد أن الإرتباط غير المتزن يعتمد علي معدل التوافيق الوراثية Recombination Rate.أي أن الإرتـــباط غير المتزن هو المصاحبة غير العشوائية للجيـــنات عند تكوين الجاميطات فى العشيرة، أو ميول اليل معين في موقع ما أن يجـــتمع مع اليلات أخري في مواقع أخري بمعدل تكراري أكبر من معدل الحدوث نتيجة الصدفة.

ووجـــود عـــدد مـــن الماركـــرز مبعثرة حول الكيوتي ال معا يكونا ماركر هابلوتيـــب ويمكن تكوين الماركر هابلوتيب بوجود كيوتي ال محصورة بين أثنين من الماركرز.

ويلاحـــظ أنـــه في حالة الإتزان العشوائى LE يمكن تحديد التباين عند كل موقـــع تمامـــا وذلـــك بمعـــرفة تكرار الاليلات عند هذا الموقع حيث ان تكرار الهابلوتيـــب يمكـــن تقديره من ضرب تكرار الاليلات لهذا الهبلوتيب . ولو كان هـــناك اليلان لكل موقع من المواقع الثلاثة، يكون هناك ثلاثة ثوابت فقط لوصف العشـــيرة فـــي حالـــة الإتزان العشوائى، أو الإرتباط المتزن LE، بينما في حالة الإرتـــباط غـــير المـــتزن LD يجـــب ان يكـــون وصـــف كامل لكل تكرارات الهابلوتيـــب، وكذلـــك يجب معرفة تكرار الاليلات وكذلك معدلات عدم الإتزان Disequilibrium Coefficient. لذلك بالنسبة للثلاثة مواقع A,B,C لوكان هناك اليلان لكل موقع يجب تحديد سبعة من الهابلوتيب لوصف العشيرة ويكون تكرار الهبلوتيـــب هـــو واحـــد صـــحيحا مطروحا منه مجموع تكرار السبعة هابلوتيب الاخري. وفي الإرتباط غير المتزن عندما يؤثر الإنتخاب على موقع معين يتسبب ذلك في تأثير قوي علي التكرار الأليلي فى المواقع الأخرى.

تقدير الارتباط غير المتزن بين الماركر والكيوتى إل:

لو رمزنا لاليلى الماركر بالرمز M1,M2 ولاليلى الكيوتىإل بالرمز Q1,Q2 يمكـــن تحديـــد الارتـــباط غير المتزن بين الكيوتىإل والماركر بحساب المصاحبة المعـــنوية و القيمة المعنوية χ^2 فمثلا المحسوبة من جدول ٢ × ٢ للحالة المرضية فى وجود اليلى الماركر.

Marker status	Normal	Disease	Total
Allele A1	n_{N1}	n_{D1}	n_1
Allele A2	n_{N2}	n_{D2}	n_2
Total	n_N	n_D	N

$$\chi^{٢} = N(n_{N1} n_{D2} - n_{N2} n_{D1})^2 / n_1 n_2 n_N n_D$$

وتصبح قيمة الارتباط غير الوراثي Linkage Disequilibrium ($\hat{D}$)

$$\hat{D} = \frac{n_{N1}}{n} - \frac{n_N}{n} \times \frac{n_1}{n}$$

إستخدام الإرتباط الوراثي غير المتزن في تحديد ال كيوتي ال علي الخريطة الوراثية:

يسمح الإرتباط الوراثي غير المتزن بإستخدام كل التوافيق الوراثية والتي حدثت عبر الأجيال قبل بدء التحديد الوراثي للماركر Marker Genotyping. ويمكن تحديد الإرتــباط غــير المتزن بتقدير تأثير الماركرهابلوتيب علي الصفة الكمية، حيث أن الهابلوتيــبس الــذي يحتوي أليلات ماركر متطابقة. يتوقع أن يكون لها التأثير نفسه علــي الصــفة الكمــية. لأن وجود أليلات متطابقة للماركرز يعنى أن المنطقة على الكروموسوم التى تحتوي على الماركرهابلوتيب QTL (بين الماركرز) تورث وتنتقل بالطــريقة نفسها التي تنتقل بها الأليلات المتطابقة في الأب المشترك في حالة التربية الداخيلــية Identical by Descent – وبذلــك يمكــن – للهبلوتيب أن تحمل أليلات الكيوتــي إل. ويســمح الإرتباط غير المتزن – كما سبق ذكره – بإستخدام التوافيق الوراثــية، ولكــن يجــب مراعاة أن الإرتباط غير المتزن يتأثر تأثرا بالغا بعوامل أخري مثل مدي الخلط، والطفرة، والإنتخاب، والد فع الوراثي Genetic Drift والتي تتسـبب في مسافات واسعة بين الجينات وارتباط غير متزن وواسعًا. ويمكن توضيح حدوث الإرتباط الوراثي_غير المتزن بفرض وجود عشيرة قاعدية، وفي حالة إرتباط متزن Linkage Equilibrium (LE) وحدوث إحدي الطفرات في أليلات الكيوتي ال نفسها مما يخلق كيوتي إل مغروسة Embeded في ماركر هابلوتيب معين، ثم حدثت توافــيق وراثــية عــبر الأجــيال المتلاحقة لذلك سيبقى الهابلوتيب الأصلى لجينات الماركرز القريبة من الكيوتي إل، وبالتالي في الجيل الحالي ستكون أليلات الماركرز فى حالة إرتباط غير متزن مع اليلات الكيوتي إل.

دمج الإرتباط الوراثي المتزن (LE) والإرتباط الوراثي غير المتزن (LD):

وفــي هذه الحالة يسمح بالإنتفاع بالتوافيق الوراثية والتى حدثت داخل وخارج الأجيال المنسبة Pedigreed and Genotyped Generation وأي توافيق من تحليل الإرتباط الوراثي Linkage Analysis and Linkage Disequlibrium والأرتباط غــير المــتزن. وساعد هذا فى تحديد دقيق لوضع الكيوتي إل لصفة إنتاج الحليب علــي الكروموسوم رقم 6 (BTA6) قريبة من الماركرز BM143. والمثال التالي يوضح هذا النظام:

١- تستخدم الحيوانات فى نظام الجدة والحفيدة Granddaughter Design وتستخدم الطلائق Elite Sire والتي لها عدد كبير من الأبناء Sons، والتى تم لها إجراء الإختبار بالنسل Progeny Tested Sons ولكل طلوقة (أبن) عدد كبير من البنات Daughter ومسجل لها البيانات للصفة الكمية (إنتاج الحليب مثلاً).

٢- تتبع نسب كل حيوان في الدراسة. حيث يتم حساب مصفوفة إحتمال تطابق الأليلات بالنسب Identical by Descent (IBD) بين كل زوج من الهابلوتيب عند موقع الكيوتي ال.

٣- تستخدم القيمة التربوية أو قيمة ال Predicted Transmitting Ability (PTA) المحسوبة من BLUP للأبناء كقيمة مظهرية.

٤- يجري الأختبار الوراثي Genotyping للماركرزلكل الطلائق، وكل الأبناء في المناطق علي الكروموسوم التى حول الكيوتي ال باستخدام البريمرز Primers وال ب س أر PCR.

٥- يحدد عدد الأليلات، ودرجة الخلط للطلائق الكبيرة Elite Sire.

٦- تسجل كل التوافيق الوراثية بين كل الماركرز.

٧- ترتب الماركرز، وتحدد المسافات بين الماركرز، باستخدام معادلة هالدين Haldane Function مثلاً (هناك معادلات أخري).

٨- فرض النموذج الإحصائى Statistical Model وحساب الحدبة العظمى Maximum Likelihood للبيانات في وجود الكيوتي إل، أو في عدم وجود ال الكيوتي إل.

٩- تحسب لكل الهابلوتيب LOD =2 log (Likelihood with without QTL) QTL /Likelihood أو مايسمى Log of Odd Ratio أو Log Likelihood Ratio Test والتي تتوزع χ^2 بدرجة حرية واحدة. حيث أن وجود قيمة معنوية يعنى وجود كيوتي إل في هذا المكان .

خرائط الارتباط الوراثية :

يمكن تقسيم خرائط الارتباط الوراثية إلى:

١- خرائط ارتباط وراثية مكثفة Dense Linkage MAP:

هي خرائط تحدد مدي قرب الجينات المختلفة من بعضها، وارتباط الجينات بعضها بعضًا ارتباطا وثيقا. بمعنى آخر ان هناك بعض الماركرز تكون قريبة جدا

مــن الــيلات ال كــيوتى ال، ومــن المحتمل ان تكون في حال عدم اتزان LD، وبالتالــي لا توجــد حاجــة لايجــاد طور ارتباط Linkage phase لكل عائلة من عائلات التربية خصوصا تربية الاباعد وتكون هذه الجينات، أو الماركرز مرتبطة ارتــباطا موجبا وعليه يمكن انتخاب كل العائلات بدون الحاجة الي طور الارتباط، ويمكــن تجمــيع الماركــرز فــي هابلوتيــب علي الكروموسوم فيما يعرف بقطع الهابلوتيب علي الكروموسوم Haplotype chromosome Segment. وبالتالي نجد الهبلوتيــب علــي هذه القطع من الكروموسوم تكون مرتبطة بالنسب (IBD) حيث تحتوي علي الماركرز هابلوتيب نفسه ويمكن ان تحمل اليلات كيوتي إل.

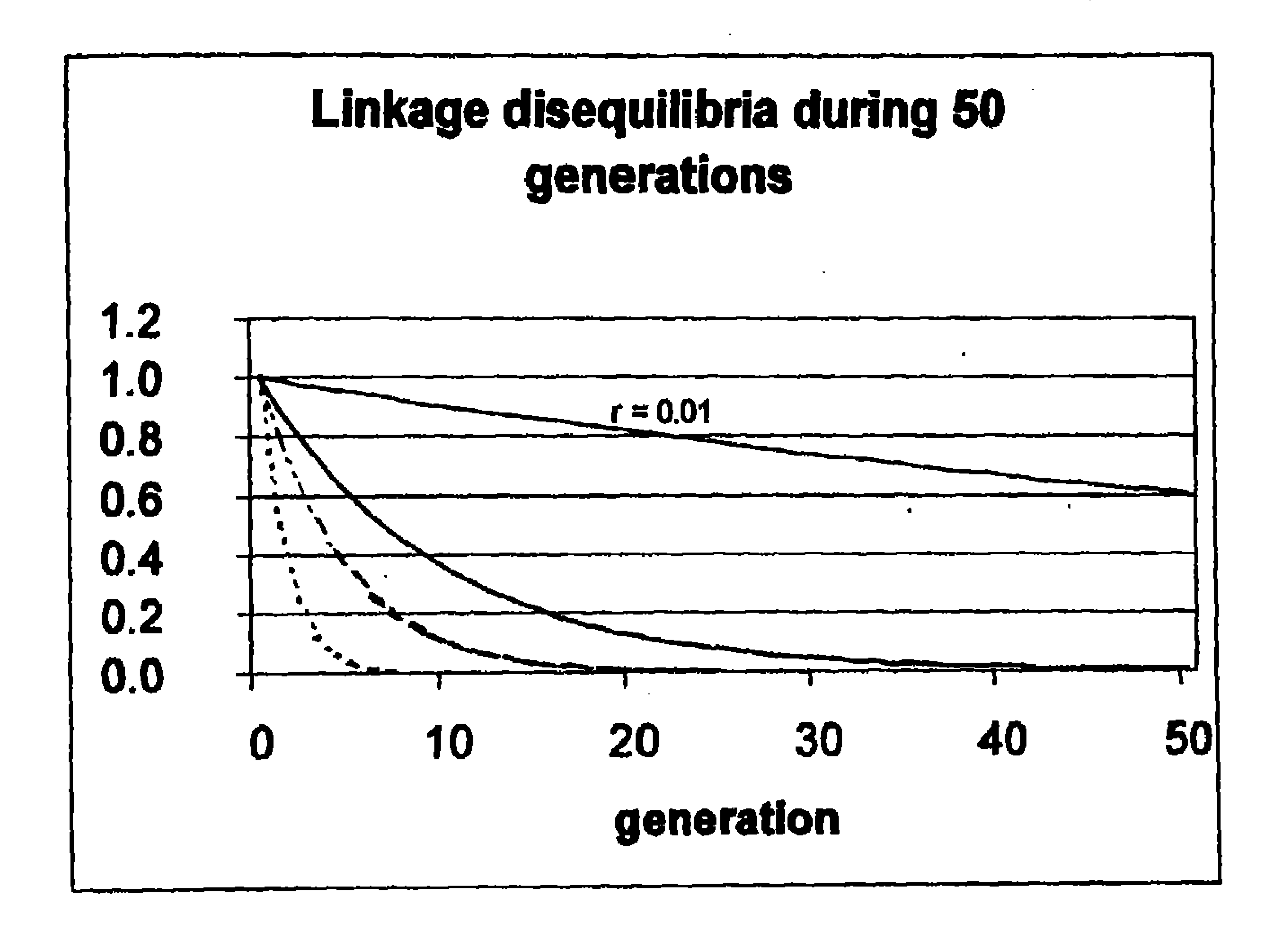
ويلاحــظ ان الخــرائط المكثفة تحدد عدد كبير من القطع الكروموسومية وبالتالــي يكــون هناك عدد كبير من تاثيرات هذه القطع يجب تقديرها ويكون عددها اكثر من عدد البيانات المظهرية للنقط المراد معرفة تأثيرها. ومن ثم لا يكــون هــناك عــدد كــاف من درجات الحرية لتقدير تأثير الاليلات بواسطة الارتباط غير المتزن.

٢ – خرائط ارتباط وراثية غير مكثفة Sparse Linkage Map:

تكون اليلات الماركرز واليلات ال كيوتي ال متباعدة عن بعضها، أو متناثرة وعليه يجب معرفة طور الارتباط Linkage phase لكل عائلة والتي سوف تستخدم الماركرز فيها للانتخاب.

عشــائر الابقــار لهــا حجــم فعال قليل فى العشيرة Lower Effective population sizes ولكن لها حجم عائلي كبير (بنات كل طلوقة) والتى بدورها مسؤولة عن الارتباط غير المتزن ومركز علي مستوي الجينوم كله Extensive Genome Wide Linkage Disequilibrium والتي تسهل رسم خريطة وراثية دقيقة وذلك في وجود خريطة للماركرز قليلة الكثافة Low Density Marker Map.

ويوضح الرسم التالى العلاقة بين عدد الأجيال ودرجة الارتباط غير المتزن





الباب السابع
إستراتيجيات استخدام الماركرز

الباب السابع
إستراتيجيات استخدام الماركرز

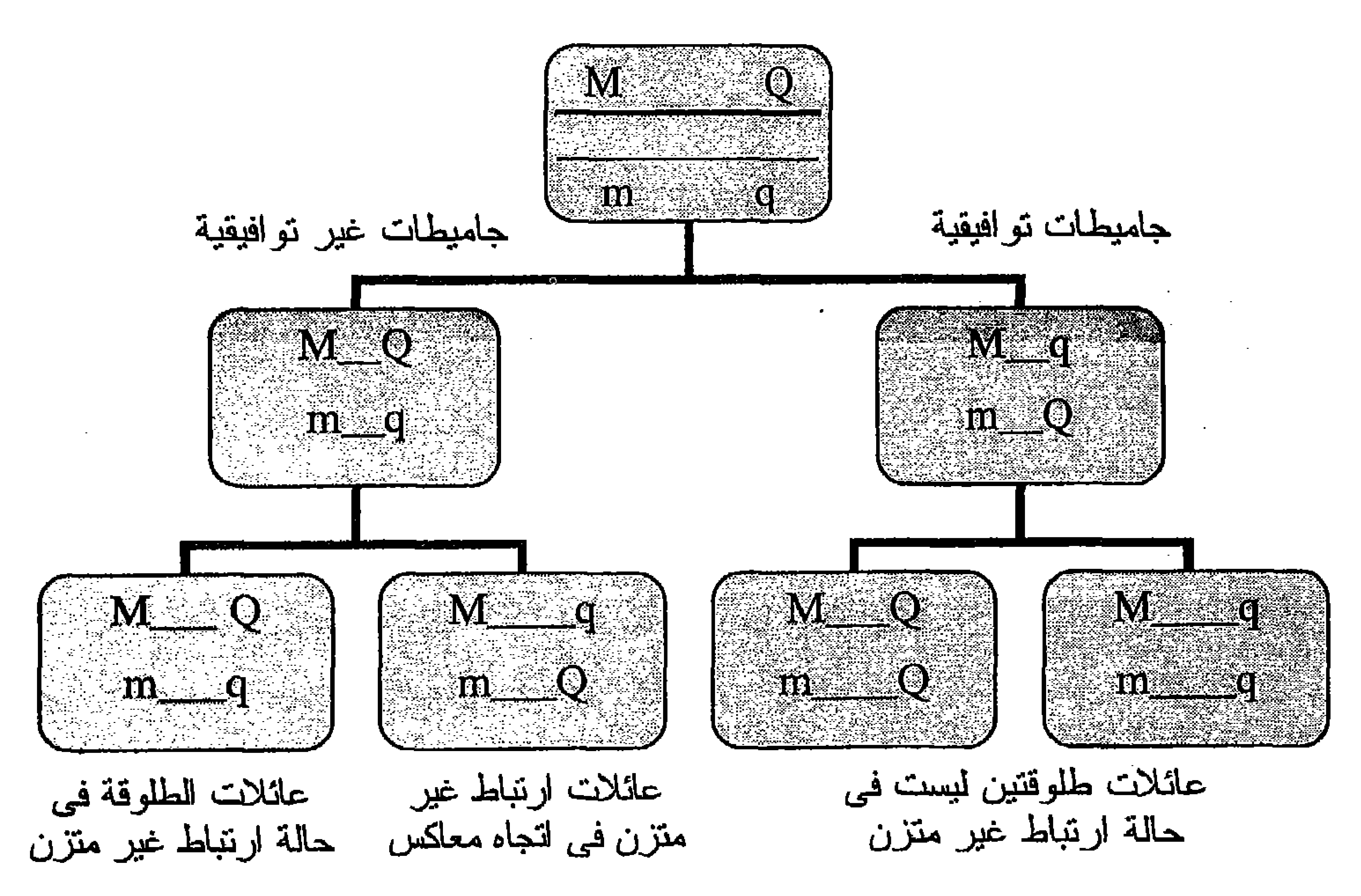
من العوامل الهامة لتحديد الكيوتىإل وبرامج الماركرز المساعدة للإنتخاب MAS هو مدى حدوث الإرتباط غير المتزن Linkage Disequilibrium(LD) فى العشيرة مع مواقع لها أثرها فى التباين الوراثى للصفة.

الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن :

ولو إعتبرنا ان اليلات الماركر هى M,m واليلات الكيوتىإل هى Q, q وعلى الكروموسوم نفسه مرتبطة مع الماركر والفرد الخليط لكلا من الموقعين هو MmQq، والاليلات عند الموقعين يمكن ترتيبها فى هابلوتيبس (Haplotypes) على الكروموسمين لزوجين متماثلين يحملهما فرد معين، فالفرد الذى له التركيب MmQq يكون له الهابلوتيبس (أكثر من هابلوتيب) MQ/mq، أو يكون له الهبلوتيبس Mq/mQ. وهذا الترتيب يسمى طور الماركر- كيوتىإل marker-QTL Linkage phase. وترتيب اليلات الهبلوتيبس مهم لأن النسل يتورث واحد من الهابلوتيبس التى يحملها الاب. وفى العشائر التى هى فى ارتباط متزن (LE) تتوزع الاليلات فى موقعين عشوائيا إلى الهابلوتيبس، بمعنى أخر أن الكروموسوم أو الهابلوتيبس الذى يحمل الاليل M ليس من المحتمل أن يحمل الاليل Q بتكرار مختلف للكروموسومات التى تحمل اليل الماركر m، وتكرار الهابلوتيب MQ، يساوى حاصل ضرب تكرار الاليل M، وتكرار الاليل Q. لذلك لو كان الماركر والكيوتىإل فى حالة إرتباط متزن، لايكون هناك قيمة فى معرفة الماركر جينوتيب للأفراد لأنه لا يعطى معلومات عن جينوتيب الكيوتىإل. ولو كان الماركر والكيوتىإل فى حالة إرتباط غير متزن، لايكون هناك فرق فى إحتمال وجود الاليل Q على الكروموسومات، التى تحمل اليلات الماركر M، أو تحمل الماركر m. لذلك يمكن توقع فروق بين متوسط القيمة المظهرية للماركر جينوتيبس. وقد سبق أن ذكرنا أن أهم العوامل التى تتسبب فى عدم الاتزان هى: الطفرة، والصدفة، والانتخاب، والتربية الداخلية، والخلط، والهجرة. واهم العوامل المسؤولة والتى تتسبب فى تقليل ارتباط عدم الاتزان LD هو حدوث التوافيق الوراثية Recombination والتى تعمل على ترتيب الهابلوتيبس فى كل جيل. ومعدل نقص الارتباط غير المتزن يعتمد على معدل التوافيق بين المواقع الوارثة وفى المواقع

المرتـــبطة ارتباطًا وراثيًا شديدًا نجد أن الارتباط غير المتزن يستمر مقاومًا للنقص Persist Decay لعدة أجيال.

بالرغم من ان الماركر والكيوتىإل المرتبطة ممكن أن تكون فى إرتباط متزن عـــبر العشـــائر، نجد ان ماركر الارتباط غير المتزن، دائما يتواجد داخل العائلات حـــتى بين المواقع البعيدة عن بعضها. لو كان هنـــاك طلوقة خليط له الهابلوتيبس MQ/mq وهـــذا الجينوتيب لهذا الطلوقة هو متطابقا للجيل F1 (الخليط بين خطى مـــرباة تربية داخلية). والطلوقة سوف ينتج أربعة أنواع من الجاميطات: اثنان منهم غـــير توافيقيين non-recombinants وهما mq, MQ وأثنين توافقيين recombinants وهمـــا Mq، mQ. وكجاميطات غير توافيقيية سوف يكون لهما تكرار أكثر ويتوقف ذلـــك علـــى معدل التوافيق الوراثية recombination rate بين الماركر والكيوتىإل، وهـــذا الطلوقـــة ســـوف تنتج جاميطات فى حالة إرتباط غير متزن LD ويمتد هذا الإرتـــباط غـــير المـــتزن لمســـافات طويلـــة عند جيل واحد من التوافيق الوراثيية. والشكل التالى يوضـــح ذلك ماركر- كيوتىإل لإرتباط غير متزن داخـــل العائلات



ويـــتواجد هـــذا النوع من الارتباط غير المتزن فقط داخل العائلة. والنسل من طلوقة أخر Mq/mQ سيظهر إرتباط غير متزن أخر. ولكن الإرتباط غير المتزن ســـيكون فـــى إتجاه أخر LD in opposite direction لوجود طور إرتباط ماركر-

كـــيوتىإل مختلفMarker-QTL Linkage Phase فى الطلوقة. من ناحية أخرى عائلات الطلوقة MQ/mQ والطلوقة Mq/mq سوف لا تكون فى حالة إرتباط غير مـــتزن LD لعـــدم إنعـــزال الكـــيوتى إل فى هذه العائلات. وعند تجميع كل هذا عبر العائلات هذه الأربعة أنواع من الارتباط غير المتزن LD سوف تزيل بعضها بعضـــا Cancel each other out مما يؤدي الى حدوث إرتباط متزن عبر العشيرة ومـــع ذلـــك الارتـــباط غير المتزن داخل العائلة يمكن ان يستخدم لتحديد كيوتىإل وإستخدام (م ا س) MAS مع الأخذ فى الاعتبار الفروق فى طور الارتباط.

وتطبـــيق الوراثة الجزئية لغرض التحسين الوراثي يعتمد على معرفة الجينوتيب للأفراد لمواقع وراثية محددة وهناك ثلاثة أنواع مواقع جينية يمكن تمييزها وهى:

١ – **الماركـــرز المباشرة Direct Markers** وهى المواقع التى تشفر Code طفرة وظيفـــية بلومورفوزمية ومن الصعب تحديدها لصعوبة إثبات السببية وتحديدها، وقلـــة الأمثلة عليها، فيما عدا الجينات الفردية التى تؤثر فى الصفات Single-Gene Traits. وبمعنى آخر، أن الماركر يحدد تماما الجين أو عندما يكون اليل الماركرM واليل الكيوتىإل Q دائما مع بعضهما. وهذا يحدث دائما عندما يقيس الماركـــر البلومورفـــيزم داخـــل الجين الذى يسبب التأثير. ويدلنا دائما الماركر المباشـــر علـــى جينوتيب الكيوتىإل. ويفضل استخدام الماركر المباشر الماركر المرتبط Linked Marker بالكيوتىإل لو كانت حقيقة هى ماركرز لجينات ذات تأثـــير رئيسى Major Gene Effects. وبمفهوم آخر لو كان الماركر الوراثى داخـــل الجيـــن نفسه عندئذ يكون هناك أدلة قوية على استخدام الجين لأنه يمكن فـــى معظم الحالات معرفة و بدرجة ثقة 100% أي من الحيوانات يمتلك الاليل الجـــيد للجيـــن. وقـــبل الاتجاه إلى إدخالها برامج التربية يجب تحديد تأثير هذه الجيـــنات على الصفات المختلفة وذلك فى كل بيئة إنتاجية، وكذلك فى كل نوع، وبعدهـــا يمكـــن الاتجاه نحو إدخال معلومات الماركر لتحديد اى من الحيوانات يمكـــن إنـــتخابها للتربية. ومن أهم مزايا الماركر المباشر هو استخدامها بدون معـــرفة سجلات النسب أو قياسات للصفة بالرغم من أهمية هذه المعلومات فى تحديـــد وضـــبط تأثير الجين الرئيسى فى الأنواع المختلفة، و الخطوط الوراثية المختلفة، أو النظم الإنتاجية المختلفة واستغلالها بعد ذلك.

٢– **ماركـــرز الإرتـــباط غير المتزن LD Markers**. وتشمل المواقع والتى فيها العشيرة فى حالة غير متزنة عشوائيا لطفرة وظيفية Functional Mutation. ويتطلـــب هـــذا الماركر مسح وراثى مكثف حيث تكون المسافة الوراثية بين

الماركر والكيوتىإل هو (1-5 cM بناءاً على إمتداد ماركر غير متزن عشوائيا والــذى يعتمد على تركيب العشيرة وتاريخها) ولتحديد الماركر يتطلب إرتباط وراثــي قــوى بينه وبين الطفرة المسببة Causative Mutation والتى تحدد كجين مرشح بولومورفيزمى Targeted candidate gene polymorphisms أو بواسطة خريطة الماركرز المكثفة High Density Marker Maps.

٣- **ماركرز الإرتباط المتزن LE Markers**. وتشمل المواقع والتى فيها العشيرة فــى اتــزان عشوائى لطفرة وظيفية وذلك فى العشائر المرباة تربية متباعدة. ويمكــن تحديــد Detected هذا الماركرز على طول الكروموسوم باستخدام الخلــط بين الأنواع، أو تحليل بيانات عائلات كبيرة من أنصاف الأشقة داخل النوع ويتطلب هذا المسح الوراثى خرائط للماركرزغير مكثفة Sparse Maps (علــى مسافات 15-50 cM وذلك بناءً على معلومية الماركر وتكاليف المسح الوراثــي). و باستخدام ماركر الإرتباط المتزن أمكن تحديد معظم الكيوتىإل الكبيرة والمتوسطة التأثير.

والجدول التالى يلخص إستراتيجيات لتحديد الكيوتىإل فى قطعان الحيوانات

نوع العشيرة	داخل الخليط			العشائر المتباعدة	
	الخلط الرجعي F2	داخل الخلط المتقدم	عائلات1/2 الاشقة	امتداد النسب	عينة من عشيرة غير منسبة
نوع الماركر	LD	LD	LE	LE	LD
طول الجينوم	متسع الجينوم	متسع الجينوم	متسع الجينوم	منطقة الجينوم المرشح	متسع الجينوم
كثافة الماركر	غير مكثفة	مكثف	غير مكثف	أكثر كثافة	قليل من المواقع
نوع LD	متسع العشيرة	LD	داخل العائلة	LD	متسع العشيرة
عدد الأجيال لمعدل التوافيق المستخدمة فيالخرائط	1	1 <	1	1 <	1 <<
إمتداد LD حولQTL	طول	أصغر	طول	أصغر	صغير
وضوح الخرطة	ضعيف	أحسن	ضعيف	أحسن	عال

LD = ماركر الإرتباط غير المتزن

LE = ماركر الإرتباط المتزن

تحديد الكيوتى إل مستخدما LD ماركرز داخل الخليط :

الخلــط بيــن الأنــواع و التى تختلف فى الیل وكلذلك تكرار الهابلوتيب يخلق إرتباط غير متزن مكثف فى العشيرة الخليطة. هذا الإرتباط غير المتزن يمتد لمسافة كبــيرة، لان هذا يتطلب جيل واحد فقط من التوافيق الوراثية فى F2. لذلك وبالرغم مــن أن هذه الماركرز ممكن يكون فى إرتباط متزن LE مع كيوتى إل داخل الأنواع الأبوية سوف يكون جزئيا فى حالة إرتباط غير متزن LD مع الكيوتى إل فى العشيرة الخلــيطة لــو كان هناك اختلاف فى تكرار الماركر والكيوتى إل بين الأنواع. وهذا ماركــر الإرتــباط غير المتزن على متسع العشيرة gename wide يمكن يؤدى إلى تحديــد الكــيوتى إل الــتى تختلف بين الأنواع الأبوية بناءً على المسح الوراثى بعدد محــدود من الماركرز على طول جينوم (كل 15-20 cM). وهذا الإتجاه هو الأساس للإســتخدام المكــثف لــل F2 أو الخلط الرجعى بين الأنواع أو بين الخطوط لتحديد الكيوتى إل فى الخنازير والدواجن وماشية اللحم. والإستخدام المكثف لماركر الارتباط غــير المتزن LD يمكن فيه تحديد الكيوتى إل والتى على مسافة من الماركرز ولكن يحــدد أيضــا الدقة (الوضوحMap Resolution) التى فيها يحدد موضع الكيوتى إل. ومــن المــتوقع إســتخدام مكــثف أيضــا لماركــر الإرتباط غير المتزن للعشيرة Population-Wide LD فــى الخطوط المخلقة Synthetic lines اي الخطوط التى نتجــت مــن الخلــط حديــثا. وبناءاً على عدد الأجيال منذ بدء الخلط، إمتداد ماركر الارتــباط غــير المتزن ينتهى بتقدم الأجيال وسوف يمتد إلى مسافة قصيرة عنها فى عشيرة ال F2. وسوف يتطلب هذا خريطة ماركر اكثر كثافة لإجراء المسح الوراثى وبقوة إختبار مساوية كما فى F2 ولكنه يحدد أكثر دقة مكان لكيوتى إل.

تحديد الكيوتى إل بإستخدام ماركر الارتباط المتزان LE فى العشائر المتباعدة :

حيــث أن أطوار الارتباط بين الماركر والكيوتى إل يمكن أن تختلف من عائلة لعائلــة، لذلك نجد ان إستخدام ماركر الارتباط غير المتزن LD لتحديد الكيوتى إل يتطلب معرفة وتحليل تأثير الكيوتى إل داخل العائلة وليس عبر العشائر كما فى F2 والخلط الرجعى Backcrosses. ومدى إستخدام LD داخل العائلة يكون كثيفا لذلك يكــون تغطــية الجيــنوم كله من خلال عدد محدود من الماركرز ولكن الماركرز المهمــة ممكــن تكون على مسافة من الكيوتى إل، مما يؤدى إلى وضوح ضعيف للخــريطة. ويمكن تحديــد ماركز الارتبــاط المتزن LE Markers على مستوى الجيــنوم كــاملا مســتخدما عائلات أنصاف الاشقة فى وجود خريطة ماركر غير مكــثفة (مسافات تتــراوح 15-20 cM) وأهــم الأمثلة لذلك هــو إلانتفاع بماركر

الارتباط المتزن مع عائلات أنصاف اشقة ابوية كبيرة العدد والتى تنتج من استخدام التلقيح الصناعى.

تحديد الكيوتى إل باستخدام ماركر الارتباط غير المتزن فى العشائر المتباعدة :

هناك إستراتيجيتان لإيجاد ماركرز إرتباط غيرمتزن متسع للعشيرة Population Wide LD مع الكيوتى إل وهما:

١- تقدير للماركرز والتى فى أو قريبة من الجينات التى يعتقد إنها لها علاقة بالصفة المرغوبة Candidate Genes.

٢- مسح وراثى Genome Scan بإستخدام خريطة ماركر مكثفة High Density بوجود ما ركر لكل 5-2 cM..

ونجاح اى من الاتجاهين يعتمد على مدى إمتداد ماركر الارتباط غير المتزن فى العشيرة. فمثلا الدراسات فى عشائر الإنسان وجدت ان LD ماركر الارتباط غير المتزن يمتد لمدى اقل من 1 cM. لذلك يجب توافر عدد من الماركرز للحصول على تغطية كافية من الماركر فى عشائر الإنسان حتى نتمكن من تحديد للكيوتى إل مبنيا على متسع للعشيرة لماركر الارتباط غير المتزن Population Wide LD. ورغم أن وجود LD ماركر الارتباط غير المتزن فى قطعان الحيوانات له ميزة فى تحديد الكيوتى إل ولكن يعتبر عيبا لتحديد الطفرات المسببة لهذه الكيوتى إل. ومع وجود إمتداد كبير لماركر إرتباط غير متزن والذى يكون على مسافة من الطفرة المسببة يمكن أن يظهر مصاحبة مع القيمة المظهرية.

وفى وجود اتجاه الجين المرشح Candidate gene approach يمكن الانتفاع من المعلومات للأجناس الأخرى والغنية بالمعلومات الجينومية (مثل الإنسان والفئران) وكذلك تأثير الطفرات فى الأجناس الأخرى والتى سبق ان حدد لها مناطق الكيوتى إل واو المعرفة للأساس الفسيولوجى للصفات لتحديد الجينات والتى يعتقد أنها تلعب دورا فى فسيولوجيا الصفة. وبعد تحديد الخريطة الوراثية وتحديد البلومورفيزم داخل الجين نجد ان المصاحبة بين الجينوتيب للجين المرشح Candidate gene والمظهر يمكن تقديرها. والتقدم فى تكنولوجيا الجينوم ساعد على عمل التتابع القاعدى للجينوم Sequencing بأكمله كما فى الدواجن والماشية وساعد التتابع أيضا على تحديد عدد كبير من المواقع فى الجينوم والتى تحتوى على نيكلوتيدات فردية SNPs اى تحديد مواقع قواعد ال DNA التى تظهر اختلافات، فمثلا فى الدواجن أمكن تحديد اكثر من 2.8 مليون نيكلوتيدة فردية

بمقارنـــة التتابع فى دجاج الغابة الأحمر مع ثلاثة انواع محلية وبالتالى أمكن تقليل تكالــيف الجينوتيبـــنج وتحديــد الكيوتىإل مستخدما ماركر إرتباط غير متزن مع خريطة ماركر مكثفة.

عدد من الاتجاهات تم وصفها للانتفاع بمعلومات الماركرز والتى يمكن تميزها إلـــى تأثير الكيوتىإل وتأثير الماركر الوراثى. الكيوتىإل يمكن وضعها فى النموذج الإحصـــائي كعـــامل مجـــدد Fixed او كعامل عشوائى Random، بينما المعلومات تأتى من نوع الماركر هى: الماركرز المباشرة Direct Markers، ماركرز الارتباط المتزن LE Markers، ماركرز الارتباط غير المتزن LD Markers.

تقدير تاثير الكيوتىإل فى التقييم الوراثى :

فى حالة اعتبار الكيوتىإل كعامل محدد نجد ان طريقة الانحدار على احتمالات الجينوتيـــب تســـتخدم فـــى التقيـــيم الوراثـــى للأخـــذ فى الاعتبار تأثير بلومورفيزم الكـــيوتىإل. واعتـــبار الكيوتىإل كعامل محدد فى النموذج الإحصائي يكون حساسا خصوصًا لو كان هناك عدد قليل من الاليلات معروف انها تنعزل وحيث تبدو أهمية الســـيادة والـــتفوق. ويفترض أن التأثير متساوي عبر العشيرة. وفى حالة وجود عدد مـــن الكـــيوتىإل يمكن تحليل الجينوتيب المختلفة منفردة مع اعتبار السيادة والتفوق. ولأغراض الانتخاب وفى حالة استعمال كيوتىإل محددة ومع اعتبارها تجمعية يمكن إضـــافتها للتأثير البولوجينى عند حساب القيمة التربوية كما هو الحال لتأثير النوع فى التقيـــيم الوراثـــى عـــبر الأجيال. وتبدو ميزة اعتبار الكيوتىإل المحددة هو قلة عدد التأثيرات المحددة المطلوب حسابها.

واعتـــبار كيوتىإل كعامل عشوائي مع إعتبار أن كل فرد له كيوتىإل مختلفة التأثـــير. والتباين المشترك يبنى هنا على التطابق بالنسب Identical by Descent بدلا من إستخدام مصفوفة العلاقات الفردية Numerator Relationships. وبمعرفة كاملـــة للإنعزال الوراثى يمكن حساب كل الاليلات المؤسسة Founder Alleles كعوامـــل مختلفة عن بعضها. ولا يفترض النموذج الإحصائي اى إفتراضات حول عـــد الاليلات للكيوتىإل وبالتالي تأخذ فى اعتبارها اتوماتيكيا Accomdate لتداخل للكـــيوتىإل مع الأساس الوراثى Genetic Background كما فى حالة العائلات او الخطوط لذلك لا يكون اعتبار لفرض التجانس لتأثير للكيوتىإل Homogenity of QTL effects. ويحســـب النموذج الخليط Mixed Model تأثير للكيوتىإل وأخر للتأثير البولوجينى والقيمة التربوية هى مجموع التأثيرين.

التقييم الوراثى باستخدام الماركر المباشر :

عند توافر الجينوتيب للوظيفة الحقيقية للطفرة لا حاجة عندئذ لاستخدام معلومات النسب للتنبا تأثير الجينوتيب كما هو الحال عند قياس جينوتيب الكيوتىإل مباشرة. وعند وجود عدد قليل من الاليلات يكون عدد الجينوتيب محدودا، لذلك نجد أن فى التقييم الوراثى من الأمثل اعتبار تأثير الجينوتيب كعامل محدد fixed effect مع فرض الفروق الجينوتيب هى نفسها فى العائلات المختلفة وكذلك القطعان المختلفة. وهذا الفرض ممكن ان يكون معقولا فى حالة نموذج الكيوتىإل ذات الاليلين فى وجود عشيرة متجانسة نسبيا. والبديل لذلك هو إستخدام نموذج يشتمل على كيوتىإل عشوائية بتأثيرات مختلفة لكل أساس اليلى مختلف Different Founder Alleles أو حتى وجود تداخلات بين الكيوتىإل والبيئة QTL by Environment Interactions وفى كل من النموذجين يمكن حساب الاحتمال للجينوتيب Genotype Probabilities للأفراد الذين ليس لهم جينوتيب Individual with missing genotype.

التقييم الوراثى باستخدام ماركرز الارتباط المتزن LE markers :

عندما يكون الاختبار الوراثى ليس للجين نفسه ولكن للماركر المرتبط، عندئذ تصبح الإحتمالات للكيوتىإل المحسوبة من الماركر جينوتيبس Marker genotypes والتى سوف تتأثر بمعدل حدوث التوافيق الوراثية بين الماركر والكيوتىإل وبمدى امتداد ماركر الارتباط غير المتزن LD بين الكيوتىإل والماركر عبر العشيرة. لو تواجد ماركر الارتباط غير المتزن بين الكيوتىإل وماركر مرتبط معها داخل العائلة يجب تحديد تأثير الماركر أو على الأقل تحديد طور الارتباط Marker-QTL Linkage Phase للعائلات كل على حدة. ويتطلب هذا تحديد جينوتيب الماركر وسجلات المظهر لكل فرد من العائلة. وإذا كان الارتباط Linkage بين الماركر والكيوتى إل واسعًا Loose، يجب ان تكون سجلات المظهر من أقارب قريبة للأفراد المرشحة للإنتخاب، لان المصاحبة سوف تنتهى بسرعة من خلال التوافيق الوراثية. وبالنسبة لبيانات النسل يكون تحديد تأثيرات الماركر- الكيوتىإل أو أطوار الارتباط بناءً على اختبارات إحصائية بسيطة، لتقارن بين متوسط مظهر النسل التى تتوارث اليل مختلف للماركر من أب مشترك.

التقييم الوراثى باستخدام ماركر الارتباط غير متزن LD markers :

توجهت معظم المشاريع إلى إستخدام الخريطة الدقيقة Fine Map وتعنى الخريطة الدقيقة توافر ماركر او ماركر هابلوتيب فى حالة إتزان غير عشوائى مع الكيوتىإل لو لم تكن طفرة مباشرة، وغالبا ما تكون الهابلوتيب لاليلات الماركر القريبة للكيوتىإل فى إرتباط غير متزن مع اليلات الكيوتىإل، وتعطى وإختبارات الماركر معلومات عن جينوتيب الكيوتىإل عبر العائلات. وإستعمال معلومات الجينوتيب من هابلوتيبس الماركر فى التقيم الوراثى يكون من خلال وضع الكيوتىإل كعامل عشوائى فى النموذج الإحصائي. ومهمة ماركر الارتباط غير المتزن هو المساعدة فى حساب مصفوفة التباين والتباين المشترك بحساب إحتمالات التطابق بالنسب IBD Probabilities اى يمكنها إستخدام معلومات بناءً على وجود ماركر الارتباط غير المتزن. وهناك أحد الاقتراحات بإستعمال الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن معا لحساب IBD-Based co-variances (LDL analysis) وبذلك نجد انه مع وجود ماركرز مكثفة، نجد أن المعلومات عن الارتباط، وكذلك معلومات النسب تصبح اقل قيمة. وعندما يصبح موقع الكيوتىإل محددا تماما نجد ان معلومات الماركرز القريبة تستخدم بدرجة اكثر لحساب احتمالات LD-based IBD وهنا يمكن تحديد مصفوفة التباين والتباين المشترك بين تاثيرات الكيوتىإل العشوائية بدون الحاجة إلى معرفة تركيب العائلة أو معلومات النسب.ولذلك نجد ان معلومات ماركر الارتباط غير المتزن أدت إلى مصفوفة مكثفة لعلاقات الجاميطات Dense GRM.

ويمكن للنموذج الاحصائى ان يشتمل على مايسمى متسع العشيرة وإرتباط غير متزن Population-Wide LD وذلك باستخدام الماركر جينوتيب أو الهابلوتيب كعامل ذو تأثير محدد Fixed effect فى النموذج الحيوانى Animal Model وبالتالى يكون هناك إفتراضات اقل عن تاريخ العشيرة. ولكن هناك عيب وهو ان التقديرات المحسوبة تكون ليست BLUP اى ليست افضل تقدير متنبأ غير متحيز إى أن انحدارها فى إتجاه المتوسط يعتمد على كمية المعلومات المتوافرة لتقدير التأثيرات المطلوبة، وهذا مهم لو أن بعض الجينوتيب أو تأثيرات الهابلوتيب لا يمكن تقديرها لقلة عدد الأفراد التى لها الجينوتيب أو الهابلوتيب.

إتجـاه الجينوم الكامل للتقييم الوراثى بإستخدام ماركر إرتباط غير متزن ذو كثافة عالية:

Whole Genome Approach for Genetic Evaluation using High Density LD-Markers

كلما تم إكتشاف كيوتىإل، يتم أحلال تأثير البولوجينك بتأثير متعدد للكيوتىإل وتـوارث كـل واحدة يكون متبوعا بأقواس من الماركرز Marker Brackets أو معلومات من الهابلوتيبس. وهناك مفهوم يسمى العلاقة الاليلية الكلية Total allelic relationship حيـث يتم حساب التباين المشترك بين أى فردين من إيلى التطابق بالنسـب، وبالـتالى يكون الاستجابة للانتخاب أعلى عنه فى الانتخاب المبنى على معلومـات النسب لأنها تأخذ فى اعتبارها التباين الذى يعزى إلى العلاقات الوراثية التجمعـية بين الأفراد. ويأخذ هذا الاتجاه فى الاعتبار التداخل بين وداخل المواقع الوراثية، وكذلك طبيعة التوارث لكل كيوتىإل فى الجينوم مما يؤدى إلى تقدير أدق للتقيـيم الوراثـى. وكلمـا اصبح الجينوتيبنج متوافرا وبسعر قليل، كلما تم تحديد الكيوتىإل على طول الجينوم. وهنا يمكن إعتبال ماركر الهابلوتيبس كعامل مستقل عشوائى على مسافـة cM 1 من الجينوم. والتباين المصاحب لكل هابلوتيب يمكن إفتراضه متساوى لكل منطقة كروموسومية او تقديره من البيانات باستخدام طريقة البزيان Bayesian Procedure وتصبح القيمة التربوية المقدرة للأفراد هى مجموع القيمة التربوية المقدرة لكل الهابلوتيبس التى تحتويها.

إستراتيجيات الانتخاب داخل النوع بمعلومية الكيوتىإل والبولوجينات:

١- الانتخاب بناءً على معلومية الكيوتىإل فقط.

والانـتخاب بناءً على الكيوتىإل او معلومات الماركر فقط يتجاهل المعلومات المتاحة عن الجينات الأخرى (البولوجينات) والتى تؤثر فى الصفة ويتوقع ان يعطـى اقـل استجابة للانتخاب إلا إذا إشتملت (الكيوتىإل- القيمة التربوية) – الجينات التى تؤثر فى الصفة. وهذه الاستراتيجية لا تتطلب معلومات مظهرية لازمـة لتقدير تأثير الماركرز. وهى مهمة عندما يكون تقدير القيمة المظهرية من الصعوبة تسجيلها أو مكلفا (صفات الأمراض وصفات اللحم).

٢- الانـتخاب باستخدام الانتخاب الترادفى Tandem Selection ويتبع الانتخاب بـناءً علـى الكيوتىإل الانتخاب بناءً على القيمة التربوية المحسوبة من تأثير البولوجينات.

٣- الانتخاب بناءً على مجموع الكيوتىإل والقيمة التربوية البولوجينية.

ومــن المــتوقع أن الانــتخاب بناءً على مجموع الكيوتىإل والقيمة التربوية البولوجينية يؤدى إلى اقصى استجابة إنتخابية Response to Selection على المدى الصغير، ولكن يمكن ان لا يؤدى الى اقصى إستجابة على المدى البعيد للــنقص فــى الاســتجابة البولوجينــية، والأدلة الانتخابية للكيوتىإل والقيمة الــتربوية البولوجينية يمكن حسابها لتصل الى أقصى استجابة للانتخاب على المدى البعيد.

٨

الباب الثامن

الانتخاب بناءا على ثلاثة أنواع من الماركرز

الباب الثامن

الانتخاب بناءً على ثلاثة أنواع من الماركرز

Selection on three types of Markers

تطبيق الوراثة الجزئية لغرض التحسين الوراثي يعتمد على معرفة الجينوتيب للأفـراد لمواقـع وراثـية محددة وهناك ثلاثة أنواع لمواقع بلومورفوزمية يمكن تمييزها كما سبق ذكره وهى:

١- مواقع الماركرز المباشرة Single- Gene. Traits.
٢- مواقع ماركرز الإرتباط غير المتزن LD Markers.
٣- مواقع ماركرز الإرتباط المتزن LE Markers.

صفات الجينات الفردية والصفات الكمية :

إستخدمت الماركرز لتحديد مواقع، أو مناطق كروموسومية، والتى تؤثر على صفات الجين الواحد، والصفات الكمية، وصفات الجين الواحد Single gene traits وتشمل العيوب الوراثية والصفات الشكلية.

ولغرض تحديد الكيوتىإل وتطبيقاتها يمكن تقسيم الصفات الكمية الى:

أ - صـفات تسجل روتينيا Routinely recorded traits مثل صفة إنتاج الحليب وإنتاج البيض.
ب- صفات يصعب تسجيلها وتشمل الماكول الغذائى Feed Intake، صفات المنتج Product Quality.
ج- صفات غير مسجلة Unrecorded Traits ومنها صفات المقاومة المرضية.

ويمكن تقسيم الصفات السابقة إلى:

١- صفات تظهر فى الجنسن.
٢- وصفات تظهر فى جنس واحد.
٣- وصفات تسجل متأخرة فى حياة الحيوان.

والمقـدرة علـى تحديـد الكـيوتىإل يعتمد على توافر معلومات مظهرية وتتـناقص هذه المقدرة فى الترتيب ا، ب، ج وداخل كل قسم تتناقص فى الترتيب من 1, 2, 3.

وحيــث أن المســح الوراثى يتطلب بيانات مظهرية أكثر من التحليل الجينى المرشــح Candidate gene analysis (وهو الجين الذى يعرف أن تأثيره له علاقة بالــنظام البيولوجى والذى يمكن أن يؤثر فى الصفة تحت الدراسة وهذه المعلومات يمكن أن تاتى من الأجناس الأخرى مثل الإنسان والفئران). ويستخدم المسح الوراثى Genome Scan لتحديد الكيوتىإل للصفات فى القسم ا بينما يستخدم التحليل الجينى لتحديد كيوتىإل للصفات غير المسجلة روتينيا فى القسمين ب،ج.

وتخــتلف الماركــرز الــثلاثة عن بعضها ليس فقط فى طريقة تحديدها ولكن تخــتلف أيضــا فــى تطبــيقاتها فى برامج الانتخاب، حيث أن الماركرز المباشرة وماركــرز الإرتــباط غير المتزن تسمح بالانتخاب للجينوتيب عبر العشيرة لوجود مصــاحبة بين الجينوتيب والقيمة المظهرية. بينما ماركرز الارتباط المتزن يسمح بــأطوار إرتباط بين الماركرز والكيوتىإل مختلفة من عائلة لعائلة. أي أن ماركر الارتــباط المــتزن LE هــو ماركر خاص بالعائلة Family Specific ومعلومات العائلة يجب معرفتها.

والإنتخاب بناءً على الثلاثة أنواع من الماركرز يمكن تسميته:

١- الجين المساعد للإنتخاب Gene Assisted -Selection (GAS).

٢- ماركر الإرتباط غير المتزن المساعدة للإنتخاب Linkage Disequilibrium Marker- Assisted Selection (LDMAS)

٣- ماركــر الارتــباط المــتزن المســاعدة للإنتخاب Linkage Equilibrium Marker-Assisted Selection (LEMAS)

الانتفاع بالاختبارات الوراثية :

أول الاكتشــافات للماركــرز وجد فى عام 1960م فى إختبار الهالوثين وهو إختــبار طبــيعى للجين المسمى RYR حيث ان الطفرة المتنحية عند موقع الجين تتسبب في الحساسية لمرض Malignant Hyperthermia، والذى يظهره التعرض للغاز المخدر هالوثين، أو التعرض للإجهاد Stress والطفرة هى مصاحبة لمحتوى اللحــم الطرى فى الخنازير والذى زاد فى التكرار نتيجة الانتخاب المستمر للصفة والجين الذى يظهر الصفة يسمى RYR1، وحدد الجين كجين موضعى Positional Candidate Gene، والــذى يعمــل على تشفير Encodes مستقبلات الرايونودين Ryanodine receptor والذى يعمل بدوره على تنظيم إفراز أيونات الكالسيوم Ca فــى هيكــل العضلات، وبالتتابــع Sequencing لـ cDNA RYR1 من الأصيل

الطبـيعى Homozygous normal والأصـيل المتنحى Homozygous Mutant أظهـرت طفـرة فـردية Single missense mutation(R614C) فـى المتنحى الأصـيل. هـناك أنواع من ماشية اللحم، ومنها ماشية البلجيان الزرقاء Belgian Blue والشـاروليه Charolasis and Pieddmontese، والبيدمونتيس تظهر نوعا مـن التضخم فى العضلات يسمى العضلات المزدوجة Double Muscling وهذا يرجع لوجود طفرة متنحية عند الموقع mh على الكروموسوم رقم 2 Myostatin. علمـا بأن جين الميوستاتين هو الجين المرشح Candidate Gene لمظهر الصفة، وان الماشـية التى لها هذا التضخم العضلى لها التركيب الأصيل mh/mh. وكذلك إسـتخدام إختبارات الأليزا لمجموعات الدم كماركر فسيولوجى لارتباط غير متزن Physiological LD Marker للإنـتخاب للمقاومة المرضية فى الدواجن. وبالرغم مـن وجـود عـدد كبـير من التقارير لتحديد الماركرز، وجد ان معظم التجارب اسـتخدمت الخلـط بين الأنواع أو الخلط بين الخطوط. وان هذه الدراسات حددت كيوتىإل والتى تختلف فى التكرار بين الأنواع لا يمكن بعد ذلك إستخدامها مباشرة للإنـتخاب داخـل الأنـواع، ولكن يمكن أن تؤدى الى تحديد ماركرز إرتباط غير مـتزن LD Markers – لكـيوتىإل والتى تنعزل داخل الأنواع مستخدما الجينات المرشـحة موضـعيا Positional Candidate Gene Approach. (وهـو الجين المرشـح والذى فى منطقة من الجينوم والتى حددت بواسطة المسح الوراثى والتى يـبدو انهـا تحتوى كيوتىإل). على سبيل المثال تحديد طفرات للجين RN والتى تعـرف بإسـم PRAKAG3 والـتى وجـد أنها تنعزل فى الخطوط التجارية فى الخـنازير باسـتخدام الجيـن المرشـح موضعيا Positional Candidate Gene Approach لمـنطقة كـيوتىإل وتم تحديدها بواسطة الخلط بين خطين تجاريين. وإسـتخدام تجـارب الخلـط يشرح الاستخدام الوفير لكل من الماركر المباشر أو ماركـر الإرتباط غير المتزن فى الخنازير والدواجن وماشية اللحم. والإتجاه البديل هو إستخدام تحليل الكيوتىإل من خلط الأنواع Breed-Cross QTL Analysis مع إستخدام تحليل الكيوتىإل جين الإرتباط المتزن LE QTL داخل الخطوط التجارية فـى تحديـد المـنطقة وبالتالى يمكن تحديد ماركر الإتزان العشوائى المستخدم فى الإنـتخاب. أمـا فى ماشية اللبن فيستخدم اتجاه أخر حيث يجرى مسح وراثى على طول الجينوم باستخدام عائلات كبيرة من أنصاف الاشقة المتاحة فى الصناعة (من التلقـيح الصـناعى) باسـتخدام نظـام الجدة او نظام الحفيدة وهذا ادى إلى توافر واستعمال ماركر الإرتباط المتزن لعديد من مناطق الكيوتىإل.

برنامج الماركر المساعد لإدخال الجينات Marker Assisted Introgression (MAI) :

إدخال الاليل المرغوب للجين المستهدف Target gene من النوع المانح Donorالى النوع المستقبلRecipient يمكن تحقيقه بواسطة التلقيح الرجعى المتكررللاب المستقبل يتبعه جيل أو أكثر من التلقيح الداخلى Intercrossing والغرض من التلقيح الرجعى لعدة أجيال هو إنتاج أفراد تحمل نسخة واحدة من اليل الكيوتىإل للنوع المانح، ولكن تكون متشابهة للنوع المستقبل لباقى مواقع الجينوم. والغرض من مرحلة التلقيح الداخلى هو تثبيت الاليل الكيوتىإل من فرد النوع المانح . وتساعد معلومات الماركر فى تفعيل Effectiveness مرحلة التلقيح الرجعى لإدخال الجين وذلك: بتحديد الأفراد التى تحمل الجين المستهدف Target gene أو ما يسمى بالانتخاب البعدى Foreground selection (الإنتخاب بعد معرفة الجينوتيب). ويمكن تفعيل Effectiveness مرحلة التلقيح الداخلى من خلال الانتخاب البعدى Foreground Selection على الجين المستهدف.وإذا لا يمكن تحديد الجينوتيب مباشرة للجين المستهدف يمكن تحديد الافراد التى تحمله بناءً على الماركرز التى تحتوى الكيوتىإل Flank QTL على مسافات 10cM> لوجود ماركر الارتباط غير المتزن فى الأفراد الخليطة. والماركر لابد ان يشتمل على اليلات خاصة بالنوع Breed- specific alleles حتى يمكن تحديد اصل الخطوط الوراثية. ولإدخال عدد من الجينات المستهدفة يستخدم النظام الهرمى اثناء طور التلقيح الرجعى لتقليل عدد الأفراد المطلوبة. وللانتخاب البعدى تستخدم الماركرز المنتشرة على طول الجينوم وعلى مسافات 20 cM> وبذلك تكون معظم الجينات التى تؤثر على الصفة على بعد 10cM> من الماركر.

ويمكن الجمع بين الانتخاب البعدى Foreground Selection والإنتخاب القبلى (الانتخاب بناءا على معلومات النسب والنسل مثلا) Background Selection. ويمكن الإنتخاب بناءً على قطعة حول الجين المستهدف فى النوع المانح ولكن تكون فى النوع المستقبل لباقى الجينوم. وسوف يؤدى الانتخاب البعدى الىالإنتخاب لكلا من الموقع المستهدف والمواقع المرتبطة لهذا الموقع والتى بعضها يمكن ان يكون له تأثير غير مفضل على مظهر الصفة. ويجب تقليل هذا التأثير غير المرغوب أو ما يسمى Linkage drag around target locus . وقد وجد انه يجب توافر عشيرة كبيرة الحجم للحصول على أفراد خليطة لكل الكيوتىإل فى التلقيح الرجعى.

وحيث أن قطعان الحيوانات تتميز بطول مدى الجيل Generation Interval ومعدل تناسلي منخفض وتكلفة رعاية مرتفعة، لذلك نجد أن هذا البرنامج يصلح للجينات ذات التأثير الكبير فمثلا تم إدخال جين البرولا Booroola Gene(FecB) لأنواع أغنام اللبن باستخدام ماركرالإرتباط غير المتزن LD Marker لقطعان الانتخاب. وإدخال اليل الهالوثين الطبيعيHalothane إلى خط البيتران Pietrain line والذى له تكرار مرتفع من اليل الهالوثين الموجب وتم الإنتخاب بإستخدام ماركر غير متزنLD ومرتبط بالموقع RYR وتم إستخدام الانتخاب أيضا لجينوم دجاج اللحم Broiler عند إدخال جين الرقبة العارية Naked-Neck Gene من القطعان المحلية المنخفضة فى وزن الجسم إلى خطوط دجاج اللحم التجارية.

برنامج الماركر المساعد للانتخاب Marker Assisted Selection :

إن الغرض الأساسي من إستخدام الماركرز هو زيادة معدل التحسين الوراثى بالإنتخاب داخل النوع وهذا يتطلب تتبع الماركر داخل النوع - كما ذكر سابقا - أن الماركر المباشر وماركر الارتباط غير المتزن يسمح بالإنتخاب عبر العشائر. وسياتى شرح مفصل لهذا النوع من الماركر فى الباب الثالث عشر.

والجدول الآتي يبين أنواع الماركرز المختلفة المستخدمة فى التربية التجارية

الماركرز المستخدمة فى التربية التجارية للأجناس المختلفة حيث D = ماشية اللبن، B = ماشية اللحم، C = الدواجن، P= الخنازير، S = الأغنام.

قسم الصفة	الماركر المباشر	ماركر الإرتباط غير المتزن	الماركر الارتباط المتزن
العيوب الخلقية	BLAD (D)		
	DUMPS(D)		
	CVM(D)		
	MAPLE SYURP URINE(D,B)		
	RYR (P)	RYR(P)	
المظهر	CKIT(P)		POOLED(B)
	MCIR/MSHR (P, B, D)		
	MGF(B)		

قسم الصفة	الماركر المباشر	ماركر الإرتباط غير المتزن	الماركر الارتباط المتزن
صفات الحليب	k- Casein (D)		
	β-Lactoglobulin(D)		
	PMO3 (D)		
صفات اللحم	RYR(P)	RYR(p)	
	RN/PRKAG3(P)	RN/PRKAG3(p)	
		A-FABP/FABP3(P)	
		A-FABP/FABP3(P)	
		CAST(P,B)	
	>15 PICmarq(P)		
		THYR(B)	
		Leptin(B)	
الطعام المأكول	MC4R(P)		
الامراض	Prp(S)	B blood group (C)	
	F18 (P)	K88(P)	
التناسل	Booroola(S)	Booroola(S)	
	Inverdale(S)	ESR(P)	
	Hanna (S)	PRLR(P)	
		RBP4(P)	
النمو	MC4R(P)	CAST(P)	QTL (P)
	IGF-2(P)	IGF-2(P)	
	Myostatin(B)		QTL(B)
	Callipyge(S)	Carwell(S)	
محصول الحليب	DGATD	RHL(D)	QTL(D)
	GRH(D)		
	k- Casein(D)		

والمتطلبات لإدخال بيانات الماركر فى برامج التحسين الوراثى تكون أكثر فى ماركر الإرتباط المتزن LE Marker عنها فى كل من ماركر الإرتباط غير المتزن

LD Marker والماركـــر المباشـــر حيـــث أن إستخدام ماركر الارتباط المتزن فى العشائر المتباعدة Outbred population يتطلب مظهر وجينوتيب الأفراد المرشحة للإنـــتخاب مـــع أقاربها لان تقدير التأثير يكون داخل العائلات وزيادة أفراد العائلة يعـــتمد علـــى معدل التوافيق الوراثية بين الماركرز والكيوتىإل. ومن الممكن أن تكـــون البيانات اللازمة أقل وأن تكون من أقارب أكثر بعدا لو كان معدل التوافيق الوراثـــية أكـــبر. والماركر المباشر والماركر غير المتزن يتطلب جينوتيب الأفراد المرشـــحة للإنتخاب فقط، لان تقدير تأثير الجينوتيب يمكن أن يعرف من معلومات ســـابقة أو يعرف من عينة من الأفراد المعروف لها الجينوتيب والقيمة المظهرية. ويمكـــن إســـتخدام البيانات من الماركر المتزن فى تقدير قيم BLUP وذلك بإعتبار كـــل كـــيوتىإل عامل عشوائى وإعتبار عدد من الكيوتى إل داخل العائلات. وعند إســـتخدام بـــيانات الماركـــر غير المتزن والماركر المباشر يمكن إستخدام طريقة الهابلوتيـــب إذا لم يتم معرفة الجينوتيب لكل الحيوانات وعموما المتطلبات الحسابية Computational requirements أقـــل فى ماركر الإرتباط غير المتزن والماركر المباشـــر عـــنها فى ماركر الإرتباط المتزن. ويتطلب ماركر الإرتباط غير المتزن معـــرفة وتحليل الماركرز هابلوتيب ومعرفة طور الإرتباط الوراثى بين الماركرز والكـــيوتىإل. ويمكـــن إســـتخدام بيانات ماركر الإرتباط غير المتزن او الماركر المباشر كعوامل محددة Fixed genotype أو تأثير الهابلوتيب. ومع أنه لم يتم حتى الآن إجـــراء جينوتيـــب لكل الحيوانات وهذا الوضع العملى يجب إستخدام بيانات الماركر مع مصفوفة إحتمالات الجينوتيب Genotype probabilities والتى يمكن حســـابها من سجلات النسب وبيانات الماركرز كذلك. وعلى كل الاحوال متطلبات التقيـــيم الوراثـــى للماركـــر غير المتزن تتطلب تحديد الماركر هابلوتيب، وتحليله ووجود طور إرتباط بين الماركر والكيوتىإل.

ويمكـــن تقديـــر القـــيمة الـــتربوية بدرجة دقة عالية بإستخدام طريقة البزيان للـــنموذج الخلـــيط Bayesian Mixed Model analysis للماركر هابلوتيب بدرجة كـــثافة عالـــية مـــن معلومات الجينوتيب والقيم المظهرية لعدد محدود من الأفراد. وتكالـــيف الجينوتيبـــنج هى العامل المحدد حاليا لتطبيق كثافة عالية من الجينوتيبنج ولكن هذه التكلفة يتوقع انخفاضها فى المستقبل.

٩

الباب التاسع
إستخدام القيمة الدلالية
لحساب تكرار الاليلات وتباينها

الباب التاسع

إستخدام القيمة الدلالية Indicator variable

لحساب تكرار الاليلات وتباينها

لـــو كـــان هنـــاك اليلين لموقع لفرد حيث ترمز j = 1,2 لرقم الاليـــل ويرمز I = 1,2,3 n لرقم الفرد

وتصبح القيمة الدلالية X_{ij}

$X_{ij} = 1$ لو ان الاليل j فى الفرد i من النوع A

$X_{ij} = 0$ لو ان الاليل j فى الفرد i من نوع اخر

ويكون تكرار الاليل A فى العينة هو

$$P_{A}= 1/2n \sum_{i=1}^{n} \sum_{j=1}^{2} x_{ij}$$

القيمة المتوقعة (Expected value)

$$E(X_{ij}) = 1*pr(X_{ij} = 1) + 0*pr(X_{ij} = 0)$$

$$= 1*P_A + 0*(1-P_A) = P_A$$

$$P_A = P_A$$

حساب التباين :

مـــن المفترض ان حاصل ضرب (j≠j) $X_{ij}\,X_{ij'}$ سوف لا تكون صفرا فقط عـــندما تكـــون كـــلا من الاليلات j≠j فى الفرد i من النوع A حيث X^2_{ij} مثل X_{ij} نفسها.

$$E(X^2_{ij}) = P_A$$

$$E(X_{ij}X_{ij}') = P_{AA}$$

$$E(X_{ij}X_{ij}') = E(X_{ij})E(Xi'j') = P^2_A$$

$$E(P_A) = (1/4n^2)$$

$$(E\sum_i \sum_j x^2_{ij} + E\sum_i \sum_j \sum_{j\neq j'} x_{ij}x_{ij'} + \sum_i \sum_{i\neq i'} \sum_j \sum_{j'} x_{ij}x_{i'j'})$$

$$E(P_A) = (1/4n^2)(2n P_A + 2n P_{AA} + 4n(n-1) P^2_A)$$

$$E(P_A) = P^2_A + 1/2n (P_A + P_{AA} - 2P^2_A)$$

$$Var(P_A) = (1/2n)((P_A + P_{AA} - 2P^2_A)$$

In Hardy Weinberg Equilibrium

$P_{AA} = P^2_A$

$P_{Aa} = 2P_AP_a$

$P_{aa} = P^2_a$

وعموما نجد ان :

$P_{AA} = P^2_A + P_AP_a F$

$P_{Aa} = 2P_AP_a\ (1- F)$

$P_{aa} = P^2_a + P_AP_a F$

$Var\ (P^2_A) = (1/2n)\ P_A\ ((1-P_A)\ (1+ F)$

حيــث F هــى معــامل التربــية الداخلية – لو كانت F=0 تطبق معادلات (هاردى واينبرج)

مثال:

فى اختبار للدم كان عدد الجينوتيب لمجموعة الدم بين الأب والأم هو

Genotype	father	mother	Total
MM	26	27	53
MN	44	51	95
NN	23	15	38
total	93	93	186

ويصبح تكرار التراكيب الوراثية $P^{\sim}_{MM} = 53/186 = .2849$ و $P^{\sim}_M = 20/372 = 05403$

والتباين $Var\ (P^{\sim}_M) = [.5403 + .2849 \quad 2\ (.5403)^2] / 372 = .0006488$

الحدبة العظمى Maximum Likelihood (ML)

لو فرضنا ان هناك التراكيب الوراثية التالية:

A_1A_1 A_1A_2 A_2A_2 A_1A_3 A_2A_3 A_3A_3 ولهم التكرارات الاتية

n_1 n_2 n_3 n_4 n_5 n_6

حيث :

$n = n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5 + n_6$

وان هناك اثنين من الثوابت المستقلة P_1, و P_2 والمطلوب تقديرهم بإستخدام طريقة الحدبة العظمى وذلك فى الخطوات التالية:

١- تحديـد التوزيع الذى ستحسب منه معادلة الحدبة العظمى وهو فى المثال التالى: التوزيع متعدد الأوجه Multinomial Distribution.

٢- كتابة معادلة الحدبة العظمى هى:

$$L(p_1p_2) \propto (p_1^2)^{n1}(2p_1p_2)^{n2}(p_2^2)^{n3}[2p_1(1-p_1-p_2)]^{n4} \times$$
$$[2p_2(1-p_1-p_2)]^{n5}[(1-p_1-p_2)^2]^{n6}$$

٣- حسـاب التقديريـن two scores (S1, S2) بـأخذ اللوغارتم لمعادلة الحدبة العظمى ثم تفاضلهما بالنسبة للثابت الاول والثابت الثانى:

$$S_1 = \frac{\partial \ln L}{\partial p_1} = \frac{2n_1 + n_2 + n_4}{p_1} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{1 - p_1 - p_2}$$
$$S2 = \frac{\partial \ln L}{\partial p2} = \frac{2n_3 + n_2 + n_5}{p_1} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{1 - p_1 - p_2}$$

١- مساواة المعادلتين S1 , S2 بالصفر حتى يمكن حساب الثابتين:

$$p_1 = \tilde{p}_1 = \frac{2n_1 + n_2 + n_4}{2n}$$
$$p_2 = \tilde{p}_2 = \frac{2n_3 + n_2 + n_5}{2n}$$

٢- حساب تفاضل التقديرين S1 , S2

$$\frac{\partial s_1}{\partial p_1} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_1^2} = -\frac{2n_1 + n_2 + n_4}{p_1^2} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$
$$\frac{\partial s_2}{\partial p_2} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_2^2} = -\frac{2n_3 + n_2 + n_5}{p_2^2} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$
$$\frac{\partial s_1}{\partial p_2} = \frac{\partial s_2}{\partial p_1} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_1 \partial p_2} = -\frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$

٦- تقدير مصفوفة المعلومات المتوقعة Expected Information matrix وذلك بتقدير القيمة المتوقعة للتقديرات Expected values of Scores.

$$E(I) = 2n\begin{pmatrix} \frac{1}{p_1}+\frac{1}{(1-p_1-p_2)} & \frac{1}{(1-p_1-p_2)} \\ \frac{1}{(1-p_1-p_2)} & \frac{1}{p_2}+\frac{1}{(1-p_1-p_2)} \end{pmatrix}$$

ومقلوب هذه المصفوفة=

$$E[(I)]^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{p_1(1-p_1)}{2n} & -\frac{p_1p_2}{2n} \\ -\frac{p_1p_2}{2n} & \frac{p_2(1-p_2)}{2n} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathrm{var}(\hat{p}_1) & \mathrm{cov}(\hat{p}_1, \hat{p}_2) \\ \mathrm{cov}(\hat{p}_1, \hat{p}_2) & \mathrm{var}(\hat{p}_2) \end{pmatrix}$$

عناصـــر مقلـــوب مصفوفة المعلومات المتوقعة هو التباين والتباين المشترك لـــتوزيع الأوجه المتعددة Multinomial variances and covariances وبالنسبة للعيـــنات الكبيرة الحجم تعطى الحدبة العظمى تقديرا غير متحيز للثوابت المقدرة ويعطـــى مقلـــوب مصـــفوفة المعلومـــات تقديرا للتباين والتباين المشترك وتتوزع تقديرات الحدبة العظمى للثابت الواحد

MLE $\hat{\phi}$ ~ Approximately N (0, $\{E(I(\phi))\}^{-1}$

وفـــى العيـــنات الكبيرة ، ولعديد من الثوابت تتوزع تقديرات الحدبة العظمى توزيعا طبيعيا نهائيا للمتغيرات المتعددة asymptotically multivariate normal.

٧- لو كان P = $\begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \end{pmatrix}$

وتصبح قيمة $p' =$ اى قيمة الثوابت بعد الدورة الاولى من التدوير iteration حيث p هى قيمة الثوابت الاولية initial values.

$p' = p + I^{-1}S$ ويستمر التدوير حتى تستقر الثوابت المقدرة iteration continue until convergence.

لو طبقنا ذلك على اليلات الدم نجد ان معادلة الحدبة العظمى هى:

$$L \propto [p_A(2-p_A-2p_B)]^{n_A}[p_B(2-2p_A-p_B)]^{n_B}[2p_Ap_B]^{n_{AB}} \times [(1-p_A-p_B)^2]^{n_O}$$

وان التقديرين هما:

$$S_A = \frac{n_A + nA_B}{p_A} - \frac{n_A}{2 - p_A - 2p_B} - \frac{2n_B}{2 - 2p_A - p_B} - \frac{2n_O}{1 - p_A - p_B}$$

$$S_B = \frac{n_B + n_{AB}}{p_B} - \frac{2n_A}{2 - p_A - 2p_B} - \frac{n_B}{2 - 2p_A - p_B} - \frac{2n_O}{1 - p_A - p_B}$$

ويصبح التفاضل بالنسبة للثابتين هو :

$$-\frac{\partial S_A}{\partial p_A} = \frac{n_A + n_{AB}}{p_A^2} + \frac{n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{4n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - pA - pB)^2}$$

$$-\frac{\partial S_B}{\partial p_B} = \frac{n_B + n_{AB}}{p_B^2} + \frac{4n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - pA - pB)^2}$$

$$-\frac{\partial S_A}{\partial p_B} = -\frac{\partial S_B}{\partial p_A} = + \frac{2n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{2n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - pA - pB)^2}$$

وهكذا تكون مصفوفة المعلومات المتوقعة وقيم P_B, P_A

$$p = \begin{pmatrix} p_A \\ p_B \end{pmatrix}, I = \begin{pmatrix} -\frac{\partial s_A}{\partial p_A} & -\frac{\partial s_A}{\partial p_B} \\ -\frac{\partial s_B}{\partial p_A} & -\frac{\partial s_B}{\partial p_B} \end{pmatrix}$$

وتكون قيمة الاليلين فى الدورة الاولى من التدوير هى $P = P + I^{-1} S$
ويستمر التدوير حتى يحدث ثباتًا لقيم الثوابت.

مثال: مجموعات الدم

عشيرة والتى فيها جينات مجموعات الدم O,A and B بنسب .6, .3 and .1
ولو حدث التزاوج عشوائيا عندئذ يصبح تكرار الأفراد لمجموعات الدم الأربعة هو:

Group O: $(.6)^2$			=.36
Group AB			2*.3*.1=.06
Group A:	Homozygous	AA	.3*.3=.09
	Heterozygous	AO	2*.3*.6=.36

Total Group A =.45

Group B Homozygous BB .1 *.1=.01

Heterozygous OB 2*.1*.6=.12

Total Group A =.13

Total = 1.00

وفی عینة من الأفراد لمجموعات الدم كان عددهم هو

$n_A=95$, $n_B=21$, n_{AB} and $nO=70$ نجد ان قيم

$1- P_A-P_B = .6$ و $2-2P_A-P_B = 13$ و $2-P_A-2P_B=1.5$

وتصبح قیمة $P =P+I^{-1}S$

$$p'=\begin{pmatrix} .3 \\ .1 \end{pmatrix}+\begin{pmatrix} 783.591 & 498.184 \\ 498.184 & 3903.514 \end{pmatrix}^{-1}\begin{pmatrix} 34.4 \\ 26.153 \end{pmatrix}$$

ويمكن استخدام الحدبة العظمى فی تقدير الثوابت لموضع الكيوتیإل وتأثيرها فــی المنحــنی الطبيعي. لو فرضنا ان القيمــة المظهرية للفــرد الذی له كيوتیإل جينوتيــب بمتوسط μ_Q. وتباين σ^2 تصبح الحدبة العظمى للقيمة المظهرية Z معطا الجينوتيب للماركر هو Mj :

$$L(z/M_j)=\sum_{k=1}^{N}Q(Z,\mu_Q,\sigma^2)pr(Q_k/M_j)$$

حيث ان $Q(Z,\mu_Q,\sigma^2)$ هی الكثافة للمنحنی الطبيعی و N عدد الجينوتيين المفترض.

μ_Q ,σ^2 متوســط وتباين الجينوتيب، $pr(Q_k/M_j)$ هی دالة فی الخريطة الوراثية (موضع الكيوتیإل بالنسبة للماركرز الملاحظة) وتأثير الكيوتیإل يكون من خلال المتوسط μ_Q، وتباين المنحنی الطبيعی.

مثال:

فی نظام ال F_2 وماركر أحادی وكيوتیإل أحادية مرتبطة بالماركر. وان القيم المظهرية تتوزع طبيعيا حول جينوتيب الكيوتیإل. وتصبح الحدبة العظمى كالآتي:

$$l(z/MM)=(1-c^2)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)+2c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$+c^2\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$l(z/Mm)=c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)+[(1-c)^2+c^2]\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$+c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$l(z/mm)=c^2\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)+2c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$+(1-c)^2\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$

ويصـــبح الحدبـــة العظمى الكلية لعدد من $n\ F_2$ الأفراد هو حاصل ضرب الـــثلاث قيم للحدبة العظمى $l(z)=\prod_{i=1}^{n} l(z_i/M_i)$ وبالتالي نجد ان معادلة الحدبة العظمـــى هـــى دالة فى خمسة ثوابت ، موضع الكيوتىإل (c)، والثلاث متوسطات للكيوتىإل $(\mu_{QQ},\mu_{Qq},\mu_{qq})$, وتباين σ^2.

١٠

الباب العاشر
إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل

الباب العاشر

إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل

خطوات استخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتى إل:

وهى طريقة أفضل تنبأ خطى غير متحيز Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) بمعـنى أنهـا تعطى أفضل تنبأ خطى لتأثير العوامل العشوائية Random Effects وافضـل قيم غير متحيزة للعوامل المحددةFixed Effects كما هو موضح فى النموذج التالي:

بفرض أن هناك متجه Vector Y للقيم المظهرية Phenotypic Values لصفة ما فإن النموذج الخليط Mixed Model هو:

$$Y = XB + ZU + ZQq + e$$

حيث أن :

متجه التأثيرات المحددة = B

ومتجه التأثيرات البولوجينية العشوائية = U، وتباينها $var(u)= A\ V_u$

ومتجه تاثيرات الكيوتي ال العشوائية = q، وتباينها $var(q)= V_q\ G$

ومتجه التأثيرات العشوائية البيئيـة = e، وتباينها $var(e) = V_e$

Z,Q مصـفوفات المصـاحبة لقـيم B, U, q والتي تربط التأثيرات المحددة والبولوجينية والبيئية بالسجلات المظهرية Phenotypic Records للصفة وبفرض معـرفة التبايـن V_u, V_e, V_q ربمـا مـن تجربة سابقة لمعرفة موقع QTL علي الخـريطة الوراثية. لذلك يحتوي كل صف من المصفوفة Q على رقمين 11 بينما باقى أرقام الصف أو عناصره هي:

والحقـيقة أنه لا يمكن ملاحظة أليلات الكيوتي إل مباشرة ولكن يستدل عليها إحصائيا Inferred من معلومات الماركر. وبفرض تمييز اليلات الأفراد الأساسية Founding Individuals، لذلك عدد الأليلات في العشيرة القاعدية هو ضعف عدد الأفـراد القاعديـة Base Animals، وبالتالي ففى الأجيال اللاحقة يكون الاستدلال Inference علـى الماركـر هابلوتيب Haplotype لتتبع إنتقال أليلات الكيوتى ال حيـث أن المصـفوفة Q تحدد إنتقال الاليلات الكيوتي إل للنسل ولكن لا تحدد أى ألـيلات الكـيوتى إل الـتى انتقلـت لهذا ا لنسل. ويرجع ذلك إلى وجود التوافيق

الوراثـية بيـن اليلات الماركرز التى تحيط بالكيوتى إل أو أن الماركر هابلوتيبس غير معلوماتية Uninformative. وتكوين أليلات جديدة للكيوتي إل وهذه الاليلات مرتـبطة بالنسـل من خلال المصفوفة Q وتأثير الاليلات الجديدة مرتبطة بأليلات الآبـاء بفرض أن القيمة المتوقعة لتأثير الاليلات الجديدة للكيوتي إل هى متوسط تأثير اليلات الآباء للكيوتي إل والمثال التالي يوضح ذلك:

مثال بفرض وجود فردين فى العشيرة القاعدية، وكان تأثير اليلات الكيوتي ال هـو (q_1,q_2), (q_3,q_4). بفرض تزاوج الفردين وانتجا الفرد الثالث وهذا الفرد يحمل الاليل q_1 من أحد الاباء ولكن حدوث العبور بين الماركرز التي تحيط بالكيوتى أل وتكويـن التوافـيق يجعـل انتقال الاليل الثاني من الأب الآخر غير مؤكد، وعليه يتكون اليل آخر جديد يسمى q_5 عنده تصبح معادلات النموذج الخليط كالآتى:

$$Var(q_5) = Vq \;,\; E(q_5) = .5(q_3+q_4)$$

$$Cov(q_5, q_4) = Cov(.5q_4, q_4) = .5V_q \,,\; Cov(q_5, q_3) = Cov(.5q_3, q_3) = .5V_q$$

$$Qq = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q1 \\ q2 \\ q3 \\ q4 \\ q5 \end{bmatrix}$$

$$G = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & .5 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & .5 \\ 0 & 0 & .5 & .5 & 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'ZQ \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha & Z'ZQ \\ Q'Z'X & Q'Z'Z & Q'Z'ZQ + G^{-1}\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{U} \\ \hat{q} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'Y \\ X'Y \\ Q'Z'Y \end{bmatrix}$$

فـــى هـــذا المـــثال وبفرض أن μ تمثل التأثيرات المحدودة وأن المصفوفة G (مصـــفوفة التطابق بالنسب) لها تركيب المصفوفة A (مصفوفة العلاقات الفردية) وأنـــه بمعرفة قيمة كلا من $\alpha=V_e/V_u$ $\lambda=V_e/V_q$ يمكن إيجاد حل لكل من التأثيرات المحددة B والتأثيرات العشوائية البولوجينية U وتأثيرات الكيوتي إل العشوائية q

$$\begin{bmatrix} 2+\lambda & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 1+\lambda & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1+3/2\lambda & 1+1/2\lambda & -\lambda \\ 0 & 0 & 1+1/2\lambda & 1+3/2\lambda & -\lambda \\ 1 & 0 & -1 & -\lambda & 1+2\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q1 \\ q2 \\ q3 \\ q4 \\ q5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y1+y5 \\ y2 \\ y3 \\ y4 \\ y5 \end{bmatrix}$$

ومزايا طريقة النماذج الخليطة Mixed Model advantages هى:

١- تأخـــذ فى اعتبارها العوامـــل المحددة Fixed effects والعوامـــل العشوائية Random effects. وأنها تعامل تأثير الكيوتى ال المرتبطة بالماركرز كعامل عشوائى.

٢- تمـــتاز بالمرونة ولا تؤدى إلى تقدير غير متحيز للقيمة التربوية نتيجة معاملة العوامـــل العشـــوائية كعوامل محددة كما هو الحال فى طريقة أقل المربعات Least Squares.

٣- يمكـــن أن تتعامل مع عدد كبير من القطعان وهى طريقة مفيدة أيضا في حالات وجود تركيب فرضى للنسب Arbitrary Pedigree Structure ويمكن ان تاخذ فـــى أعتبارها وجود التزاوج غير العشوائى أو وجود قرابات أو وجود أنتخاب وكذلك وجود كميات مختلفة من المعلومات للاليلات المختلفة للكيوتى إل.

٤- الـــنماذج الخليطة لا تؤدى الى تضخم القيمة التقويمية لافضل الحيوانات التي تحـــدث فـــى طـــريقة الانحدار المتعدد وحيث أن قيمة G^{-1} ليست نسبة من المصـــفوفة Z Z مما يؤدى الى أن BLUP لا تؤدى الى ان عوامل الانحدار تـــنحدر بطـــريقة متساوية وبالتالي يكون ترتيب الحيوانات مختلفا فى النماذج الخليطة عنه فى طريقة الانحدار.

عيوب طريقة النموذج الخليطة Mixed Model Drawback:

١- لا تأخذ في اعتباره معلومات عن موضع الكيوتى إل.

٢- إهمـــال حـــدوث العـــبور المـــزدوج بين الماركرز، ولو أنها لن تتأثر برامج الماركر المساعدة للانتخاب خصوصا لو كانت الماركرز قريبة من بعضها.

٣- يتطلـــب حسابات كثيرة خصوصا كلما زاد عدد الكيوتي ال وكذلك زيادة عدد الأفـــراد حيث أن لكل حيوان يحتوى النموذج علي معادلة لتأثير البولوجنيك ومعادلتين لكل كيوتي إل معلمة Marked QTL.

٤- هناك فرض أن التباين متساوي لكل مواقع الكيوتي إل وهذا غير واقعي.

٥- أن مصفوفة العلاقات الفردية Numerator Relationship Matrix المستخدمة تفترض ضمنيا أن التركيب الوراثي والذي يؤثر علي الصفة معروفا وهذا غير حقيقي.

مصفوفة التطابق بالنسب المصفوفة G :

مصـــفوفة تطـــابق الجامـــيطات بالنسب Identical by Descent (IBD) هى مصـــفوفة تحـــتوى علـــى إحـــتمالات بين اثنين من الجاميطات الأبوية والامومية للاليلات المتوارثة للأفراد فيما بينهم وكذلك بين جاميطات الأفراد الآخرين. بمعنى انـــه عند موقع معين على الكروموسوم تكون الأفراد لها نسخة من نفس الاليل لجد مشترك وفى هذه الحالة تسمى الاليلات فى الأفراد Identical by Descent (IBD) ويســمى هذا الاحتمال... إحتمال التطابق بالنسب Probability of Identical by Descent وكذلـــك عندما يكون اليلين فى الفرد نفسه مشتقة من اليل نفسه الجد يقال لهمـــا انهما متطابقين بالنسب ويكون إحتمال هذا التطابق بالنسب هو معامل التربية الداخلية للفرد.

والمثال التالي يوضح طريقة حساب مصفوفة التطابق بالنسب IBD

حساب وبناء المصفوفة G &A ومقلوبهما بناء المصفوفة G &A

القيمة المظهرية	بناء المصفوفة	جينوتيب M	الام	الطلوقة	الحيوان
80		12	-	-	1
120		34	-	-	2
90		13	2	1	3
110		23	2	1	4
115		33	4	3	5

عند غياب أى من الأبوين يرمز له –
الجينوتيب عند موقع الماركر هو توليفة من الاليلات 1 الى 4
الماركر الأول في الحيوان 2 & 1 مرتبط بالاليل الأبوي للكيوتي إل.
الحيوان رقم 4 & 3 اخوة أشقة كاملة.

لبــناء مصفوفة الجاميطات G. بفرض أن حدوث توافيق وراثية r = .1 (عدم حدوث توافيق) (1-r = .9) عندئذ لو كان هناك كيوتى ال واحدة وباستخدام معلومات عن الماركر M المرتبط مع الكيوتى ال يمكن حسابها كالاتى:

١- العلاقــة بيــن جامــيطات الفرد ونفسه هى واحد صحيح أى أن العلاقة بين الجامــيطة الأبوية ونفسها هى 1 وكذلك العلاقة بين الجاميطة الأموية ونفسها (اى الأم) هــى 1. العلاقة بين جاميطة الأب وجاميطة الأم = صفرا في الفرد 1 & 2
إى ان :

$$P(V_1^p \equiv V_1^p) = P(V_1^p) = P(V_1^p) = 1 \&$$
$$P(V_1^p \neq V_1^m) or (V_1^p) \neq P(V_1^p) = 0$$

٢- للفرد رقم 3

$$P(V_3^p \equiv V_1^p) = 1 - r = 1 - .1 = .9$$
$$P(V_3^p \equiv V_1^m) = r = .1$$

٣- حيــث أن الحيوان رقم 3 والحيوان رقم 4 اشقة كاملة وتوارثو ماركر أليل نفســه مــن الأم ولكــنهم توارثوا اليلات الماركر المختلفة من الأب. لذلك لــتوارث نفــس الــيل الأب للكيوتــي ال، تحــدث توافــيق وراثية لتكوين الجمامــيطات المنــتقلة لأحــد الأبناء بمعدل r، وعدم حدوث توافيق وراثية المنــتقلة للابن الآخر بمعدل 1-r. ويصبح الاحتمال الكلي هو 18. = 2 (1-r)* r اليل الكيوتى ال المنتقلة عن طريق الام للحيوان 4 & 3 تكون متطابقة عند... عــدم حدوث توافيق.. أو حدوث توافيق في الجاميطان المنتجة. وقد يحدث ذلك كله باحتمال 82.= r*r* (1-r)*(1-r). ويلاحظ ان العلاقة بين جاميطات الاشقة الكاملة (=.5) في حالة عدم وجود معلومات عن موقع ماركر مرتبط.

٤- الحــيوان رقــم 5 ابنًا للاشقة الكاملة 4 & 3 وفى حالة عدم توافر معلومات عن الماركــر، يكــون احــتمال التطابق بالنسب للاليلات الأبوية والاموية عند موقع

الكيوتـــي ال = 1/4 بيـــنما الحـــيوان رقم 5 تـوارث المـاركر اليل 3 من كلا من الابويين والذي يؤدي الي علاقة 6666. ويمكن حسابه كالاتي:

$$P\left(V_5^P \equiv V_5^m\right) = .6561 + .0081 + .0009 + .0009 = .6666$$

حيث

أ - $P(V_5^P \equiv V_2^P \; and \; V_5^m \equiv V_2^P) = (.9)^4 = .6561$

وان الآبـــاء ورثت الاليل 3 من الام 2 عندئذ نجد ان $V_5^P \& V_5^m \; IBD \Longrightarrow V_2^P$ وذلك عند عدم حدوث توافيق وراثية وعند انتقال الجينات من الأب 2 الى 3 والى 4 ثم الانتقال من 4 & 3 الى 5.

ب- تصـــبح الاليلات IBD متطابقة بالنسب عند حدوث توافيق وراثية للجاميطات المنـــتقلة بواسطة الافراد 2 الى 3 وكذلك 4. ولكن عدم حدوث توافيق وراثية بعد ذلك اي $P(V_5^P \equiv V_2^m \; and \; V_5^m \equiv V_2^m) = .1^2 * .9^2 = .0018$.

ج- ويصـــبح V_5^P متطابقا بالنسب IBD مع V_5^m وذلك لانتقال الاليلات بواسطة الطلوقة 1 ولكن هذ الاحتمال صغير لان اليلات الماركر انتقلت للحيوان 4 & 3 اى يمكن حسابه كالآتى:

$$P\left(V_5^P \equiv V_1^P \; and \; V_5^m \equiv V_1^P\right) = .9 * .1 * .1 * .1 = .0009$$

$$P(V_5^P \equiv V_1^m \; and \; V_5^m \equiv V_1^m) = .1 * .9 * .1 * .1 = .0009$$

وفـــى هـــذا الحالـــة التوافـــيق الوراثية مطلوبة لإحدى الجاميطات التى تنتقل بواســـطة الطلوقة 1 وكلا من الجاميطتين المنتقلة بواسطة الحيوان 3 والحيوان 4. وتؤدى الاحتمالات الأربعة إلى:

$$P(V_5^P \equiv V_5^m) = .6561 + .0081 + .0009 + .0009 = .6666$$

الجـــدول التالي هو مصفوفة التطابق بالنسب لواحدة من الكيوتى ال فى حالة ارتبطها بماركر واحد (عناصر المصفوفة فوق الوتر) وفى حالة عدم ارتباطها باى ماركـــر (عناصـــر المصفوفة اسفل الوتر) وذلك باستخدام بيانات النسب وبمعرفة معدل التوافيق الوراثية (r = .1).

الفرد	1		2		3		4		5	
نوع الجاميطة	P	m	P	m	P	m	P	m	P	m
P	1	0	0	0	0.9	0	0.1	0	0.09	0.01
m	0	1	0	0	0.1	0	0.9	0	0.01	0.09
P	0	0	1	0	0	0.9	0	0.9	0.81	0.81
m	0	0	0	1	0	0.1	0	0.1	0.09	0.09
P	0.5	0.5	0	0	1	0	0.18	0	0.1	0.02
m	0	0	0.5	0.5	0	1	0	0.28	0.9	0.74
P	0.5	0.5	0	0	0.5	0	1	0	0.02	0.1
m	0	0	0.5	0.5	0	0.5	0	1	0.74	0.9
P	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25	1	0.67
m	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	1

٥- العلاقة بين الجاميطة m للفرد 3 والجاميطة m للفرد 4 هي: $= r + (1-r) * 3$ $.3 * .09 + .01 = .28$

٦- العلاقــة بين الجاميطة m للفرد 3 والجاميطة P للفرد ٥ هى .74 $= .01 + (.9)^3$ $= (1-r)^3 + r^2$.

الاستفادة من الانتخاب بمساعدة الماركر باستخدام النموذج الوراثى متعدد الجينوم

Benifits from Marker-Assisted Selection Under Additive Polygenic Model

اعتمد التقييم الوراثي سابقا على المعلومات المظهرية ومعلومات النسب وتقدير القــيمة التربوية باستخدام مصفوفة العلاقات بين الأفراد A_p Relationship Matrix مســتخدما معلومات النسب فقط وايجاد A_p واستخدام ما يسمى أفضل تنبأ خطى غير متحــيز قياسى Standard $BLUP_s$. بينما تستخدم في وجود معلومات عن الماركرز، معلومـــات النسب ومعلومات الماركرز. ويتم حساب القيمة التربوية باستخدام افضل تنــبأ خطـــى غـــير متحيز فى وجود الماركرز $BLUP_m$. كما تم استخدام معلومات النســب ومعلومات الماركرز وتقدير مصفوفة A_{pm}. وهى مصفوفة التطابق بالنسب IBD. وعناصـــر هـــذه المصفوفة هو العدد المتوقع من الاليلات التى يحملها الفرد j والـــذى يـــتطابق بالنسب مع عينة عشوائية من الاليلات من الفرد i، مشروطا على معلومـــات الماركـــرز ومعلومات النسب، وتحسب مصفوفة التطابق Conditional

بالنسب على مواقع مختلفة متساوية من بعضعها على كل كروموسوم ثم يحسب متوسطها لكل المواقع وكل الكروموسومات لتقدير المصفوفة A_{pm}.

حساب معامل التربية الداخلية :

يتم حساب متوسط معامل التربية الداخلية من معلومات النسب F_p وذلك من عناصر مصفوفة العلاقات بين الأفراد من A_p بينما معامل التربية الداخلية عند الكيوتى ال F_q عند كل جيل يمكن حسابه من معرفة تكرار التراكيب الوراثية الاصيلة مصححة للتراكيب الأصيلة فى العشيرة القاعدية ويمكن حساب ذلك من المعادلة

$$F_q(t) = \left[\sum_{i=1}^{q} Ho_i(t) - \sum_{i=1}^{q} \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2 \right] / \left[q - \sum_{i=1}^{q} \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2 \right]$$

حيث q = عدد الكيوتى ال، n = عدد الاليلات لكل كيوتىال ، P_{ij} التكرار الاولى للاليل j للكيوتى ال i. Ho_i هو تكرار التركيب الأصيل للكيوتى ال i. ومعامل التربية الداخلية الحقيقي والذى يتم حسابه عند مواقع الكيوتى ال F_q يتناقص كلما زاد طول الجينوم. ويعطى استخدام النسب تقديرا جيدا لمعامل التربية الداخلية ولكن فقط للمواقع غير المرتبطة وراثيا ويعطى معامل التربية الداخلية المقدر من معلومات النسب F_p تقديرا متحيزا لاسفل لقيمة التربية الداخلية الحقيقية F_q، وهذا التحيز مهم عند استخدام $BLUP_m$ لكل أحجام الجينوم المختلفة خصوصا الجينوم الصغير الحجم.

ومعاملات التربية الداخلية التى حسبت من معلومات النسب لاستخدامها فى حساب احسن تنبأ خطى غير متحيز القياس BLUPs كانت اعلى من مثيلاتها التى حسبت لاحسن تنبا خطى غير متحيز فى وجود الماركرز $BLUP_m$. الإضافة مع $BLUP_m$ تتبع معامل التربية الداخلية F_p فى اتجاه محدد. لكل جينوم مختلف الحجم وان هذا الاتجاه عكس الذى يتبع معامل التربية الداخلية فى وجود الماركرز F_q. وكلما صغر حجم الجينوم صغر قيمة F_q، وكلما كبر حجم الجينوم اقتربت قيمة A_{pm} من قيمة A_p.

تأثير عدد المواقع على افضل تنبأ خطى غير متحيز فى وجود الماركر $BLUP_m$:

عند حساب مصفوفة التطابق بالنسب A_{pm} يجب التوفيق بين عدد المواقع حيث يتم حساب مصفوفة التطابق بالنسب والوقت اللازم لحساب المصفوفة، وكلما

زاد عـــدد المواقـــع، كلما زادت الدقة فى تقدير العلاقات الوراثية. ولكن زيادة عدد المواقـــع بدرجة كبيرة ليس عمليا لذلك يجب ان يكون هناك توفيق بين زيادة عدد المواقع والوقت اللازم لحساب مصفوفة التطابق بالنسب. وعند استخدام افضل تنبأ خطـــى غـــير متحـــيز، وحساب مصفوفة التطابق بالنسب لعدد مختلف من المواقع للكروموســـوم (X) نجد ان زيادة عدد المواقع من 10 الى 20 للكروموسوم اعطى زيادة بسيطة فى معدل التحسين الوراثى وزيادة عدد المواقع من 20 الى 40 اعطى زيـــادة بسيطة جدا لذلك نجد ان حساب مصفوفة التطابق باستخدام 10 مواقع على الكرموســـوم مـــع اســـتخدام افضـــل تنـــبأ خطى غير متحيز باستخدام الماركرز $BLUP_m$ اعطت زيادة جيدة فى معدل التحسين الوراثى.

تأثير طول الجينوم على الفائدة فى افضل تنبأ خطى غير متحيز فى وجود الماركر $BLUP_m$:

لـــتقدير مصفوفة التطابق بالنسب IBD بدرجة دقة عالية لابد وأن يكون عدد الماركـــرز المســـتخدمة فى تقدير $BLUP_m$ كبيرا (40 ماركرز لكل كروموسوم). وكلما صغر حجم الجينوم كلما زادت الفائدة من استخدام الماركرز.

والاســـتفادة من استخدام معلومات الماركرز كانت معدومة فى الأجيال الأولى من الانـــتخاب. ولكـــن تزداد الاستفادة بتقدم الأجيال. وزاد معدل الاستجابة للانتخاب عند تقديـــر $BLUP_m$ باســـتخدام المصفوفة A_{pm} بمعدل 11 ,9 ,7 ,5% أكثر منه باستخدام $BLUP_S$، وذلـــك للجيـــنوم بعدد من الكروموسومات 30 ,20 ,10 ,5 كروموسوما على الترتيب. وتزداد الد قة فى تقدير القيمة التربوية باستخدام الماركرز $BLUP_m$ عنه باســـتخدام الطريقة القياسية $BLUP_S$ عبر الاجيال. وكلما زاد حجم الجينوم (زيادة عدد الكروموسومات) كلما اقتربت الدقة فى تقدير القيمة التربوية عند استخدام $BLUP_m$ من الدقة نفسها باستخدام $BLUP_S$.

الـــزيادة فـــى دقـــة تقديـــر القيمة التربوية، وكذلك الزيادة فى دقة تقدير معدل الاســـتجابة للانتخاب، التى لوحظت فى جينوم معين (عدد معين من الكروموسومات) مع $BLUP_m$ مقارنة بما لوحظ مع $BLUP_S$ كان مصحوبا بزيادة بسيطة فى معامل التربـــية الداخلـــية المحسوب عند موقع الكيوتى ال F_q. وكان معامل التربية الداخلية المحسوب عند مواقع الماركرز F_p كان مشابها لمعامل التربية الداخلية المحسوب عند موقع الكيوتى ال F_q.

تأثير عدد الماركرز على الاستفادة من افضل تنبا خطى غير متحيز $BLUP_m$:

كلما زاد عدد الماركرز كلما زاد معدل الاستفادة من استخدام المصفوفة A_{pm} عنه فى استخدام المصفوفة A_p، خصوصا كلما كان ذلك فى الأجيال المتأخرة من الانتخاب.وكانت الزيادة باستخدام $BLUP_m$ 2, 4% عندما كان عدد الماركرز 1, 2 ماركر ولكن وصلت الزيادة الى 11% عندما كان عدد الماركرز 10 أو أكثر وكان هناك زيادة قليلة عندما كان عدد الماركرز اكثر من 10 اى ماركر واحد لكل 10cM. وهذا يعنى ان الخريطة الوراثية التي لها مسافات وراثية 10cM تكون ذات كثافة عالية Dense لتحقيق اكثر فائدة، والماركرز التى لها أيضا معلوماتية عالية (10 اليل لكل ماركر) . وفى حالة نقص المعلوماتية عن ذلك يجب زيادة كثافة الماركرز لتحقيق الزيادة نفسها فى التحسين الوراثى المتوقع.

طريقة بسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب باستخدام الماركرز المتعددة:

مصفوفة إحتمال التطابق بالنسب بين جاميطات الفرد i والتى تورثت من الأب X (A_i^X) والجاميطات من السلف J والتى تورث من الأب Y A_j^y مشروطا على الماركر المرتبط ذو الجينوتيب (M) هو Conditional on linked Marker Genotype

$$P(A_i^X \equiv A_j^y) = P(A_j^y = A_x^P / M) * PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^P / M)$$
$$+ P(A_j^y \equiv A_X^m / M) * PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^m / M)$$

ويلاحظ أن الاحتمالين:

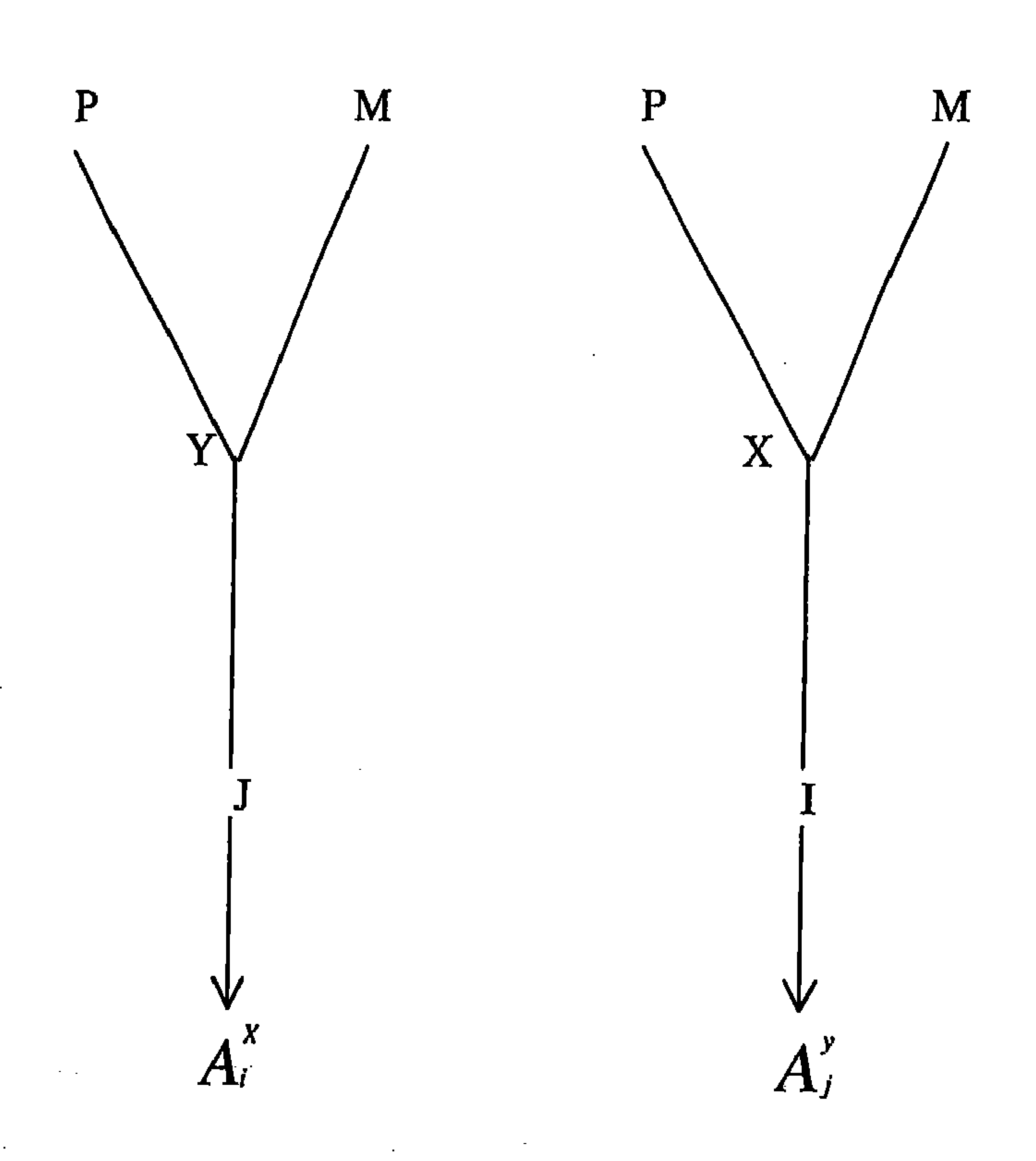
$$P(A_j^Y \equiv A_X^P / M)$$
$$P(A_j^Y \equiv A_X^m / M)$$

يمثلان إحتمال التطابق بالنسب بين الجاميطة A_j^Y وكلا من الجاميطة الابوية A_X^P والجاميطة الامومية A_X^m للاب X . بينما الاحتمالين :

$$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^P / M)$$
$$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^m / M)$$

يمـــثلان إحتمال الجاميطة A_i^X للفرد i بشرط أن تكون مثل الجاميطاتان A_X^P أو A_X^m للأبX. وجاميطتا كل فرد يمثلان الاليلات الأبوية، والأمومية المورثة. ولقـــد عرفنا أن إحتمال الجاميطات المتطابقة بالنسب PDQ هو إحتمال أن الجاميطة ولتكـــن (A_i^X) للفرد والتى ورثت من أحد الآباء (وليكن X) هى إما جاميطة أبوية Paternal A_X^P أو الجاميطة الامومية A_X^M .

وعــندما يكون الاب غير مربى تربية داخلية Not Inbred نجد أن PDQ هى نفـــس IBD بين جاميطات الفرد وجاميطات أبويه. ويكون حساب مصفوفة احتمال التطابق بالنسب مشروطا على Conditional أقرب ماركر يتوارث من الأب تحت التساؤل.



الجدول (1): إحتمال الجاميطة (A_i^X) من النسل

I تكــون نفســها كجامــيطة أبوية A_X^P أوجاميطة أمومية A_X^M معطا أقرب ماركر معلوماتى تورث من الأب X

اصل الماركر M1	M2	$PDQ\ (A_i^X \Leftarrow A_X^P)$	$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^m lM)$
P	P	(1-r1)(1-r2)/(1-r)	r1r2/(1-r)
P	M	(1-r1)r2/r	r1(1-r2)/r
M	P	r1(1-r2)/r	(1-r1)r2/r
M	M	r1r2/(1-r)	(1-r1)(1-r2)/(1-r)
P	-	(1-r1)	r1
M	-	r1	(1-r1)
-	P	(1-r2)	r2

الجــدول (2): احتمال التطابق بالنسب بين جاميطات الاشقة والتى تورثت من أب مشترك غير المربى تربية داخلية.

[عند الماركرز	حالة IBD	IBD
1	1	1-r1)2+r12)+r22)/((1-r)2 +r2)
1	0	)2 +r12)(1-r2)r2)/((1-r)r)
0	1	1-r2)2 +r122 +r22)/((1-r)r)
0	0	1-r2)r2)/(1-r)2 +r2
1	-	(1-r1)2+r12)
0	-	2((1-r1)r1)

\- = Uniformative Marker (Untyred Individ)

P = الفرد تورث الأليل من الأب

M = الفرد تورث الأليل من الأم

والمعـــادلات هى احتمال التطابق بالنسب IBD مفترضا أن الأب الشائع غير مـــربى داخلـــيا (IBD_n). ولو كان الاب مربى داخليا (الجاميطاتان لهذا الأب لهما إحـــتمال تطـــابق بالنســـب لا يساوي الصفر). وان احتمال التطابق بالنسب الكلى لجاميطات الاشقة هو $F+(1-F)*IBD_n$ حيث F هي التطابق بالنسب بين جاميطات الأب. بيــنما IBD_n هـــى المعـــادلات فى الجدول السابق. حيث r,r_2,r_1 هى معدل

التوافــيق بيــن الماركــر الأول والكيوتى إل، ومعدل التوافيق بين الماركر الثانى والكيوتى إل وكذلك معدل التوافيق بين الماركرز الأول والثانى علي التوالى.

بروتوكول استخدام الطريقة البسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب:

١- إيجــاد طــور الماركر هابلوتيب لكل الماركرز المحتملة عند وجود جينوتيب ماركر الفرد واباءه.

٢- حساب الــ IBD تتابعيًا recursively مبتدئًا من الجدود القديمة وينتهيا بأصغر النسل.

٣- عناصــر الوتر لمصفوفة الــ IBD هى 1 دائمًا اى أن الجاميطة متطابقة مع نفسها دائمًا ١٠٠%.

٤- لــو كان الفرد من العشيرة القاعدية base population يكون احتمال التطابق بالنسب بين جاميطاته والأفراد السابقة له (الجدود) صفرا.

٥- لو كان الفرد ليس من العشيرة القاعدية Not from base Population يحسب احــتمال التطابق بالنسب لكل جاميطة (أبوية أو أمومية معطًا أقرب معلومات للماركر مع معرفة طور الهابلوتيب.

٦- تســتخدم المعــادلات السابقة لحساب احتمال التطابق بالنسب بين الجاميطات الأبويــة وجامــيطات الجدود السابقة حيث أن احتمال التطابق بالنسب مع أب الفرد تم حسبها فعلاً. تكرر الحسابات نفسها مع جاميطات الأم.

٧- لــو كان الفرد هو حساب احتمال التطابق بالنسب بين أى جاميطات مشتقتان مــن أب مشترك (أى أن الأفراد هى أشقة) نستخدم المعادلة F+(1-F)*IBD هــى معادلــة Knott Haley (1997) مع الأخذ فى الاعتبار لنسل الحيوانات القاعدية والتى لا يمكن فيها تقدير قيمة PDQ.

١١

الباب الحادى عشر

النموذج المختلط للكيوتى إل

الباب الحادى عشر

النموذج المختلط للكيوتى إل

Mixture Model for QTL

عند وجود كيوتى إل لكل موقع ولكل فرد نجد ان عدد المعادلات فى النموذج الخليط Mixed Model والتى يشملها برنامج ال (م ا س) MAS هو 2m+1 حيث m هى عدد المواقع الوراثية Loci. مما يجعل من الصعوبة تطبيق النموذج الخليط للبيانات الكبيرة الحجم large data Set ومن المعروف ان التقييم فى برامج ال (م ا س) MAS يشمل تاثير الكيوتى إل وتاثير البولجينات وان تأثير الكيوتى إل يمكن الاستدلال عليه من الماركرز المرتبطة معها وان هذا الاستدلال Inference يكون نتيجة معرفة توزيع جينوتيب الكيوتى إل QTL Genotyping Distribution بدلا من معرفة تاثير محدد للكيوتى إل Fixed QTL Effect. لذلك نجد ان برنامج ال (م ا س) MAS وتقدير تأثير الكيوتى إل هو تطبيق للنماذج الخطية Linear Models لبيانات لها توزيعات مختلطة ,ومن المعروف ان الاليلات التى يحملها الفرد من الممكن ان تكون متطابقة او مختلفة خصوصا فى قطعان الحيوانات وللصفات ذات الأهمية الاقتصادية. وعند إعتبار الكيوتى إل للجدود والأبناء وللأفراد المؤسسة والأبناء وللأفراد المؤسسة Founder يصبح الأمر هو تقدير نموذج مختلط محدد finite mixture model ويلاحظ ان معادلات هندرسون والتى إستخدمت فى تربية الحيوان على نطاق واسع مصممة للنماذج الخليطة وليست للنماذج المختلطة والتى هى لبيانات خليطة من التوزيعات المختلفة وإمتداد النماذج الخليطة للنماذج المختلطة اصبح ضروريا لتحليل بيانات الكيوتىإل فى العشائر المركبة Complex Population لاستخدامها فى برامج ال (م ا س) MAS.

أهمية النموذج المختلط :

تحدد أهمية النموذج المختلط للكيوتى إل عند:

١- عدم معرفة عدد الاليلات وتكراراتها فى العشائر القاعدية وهذا بالنسبة للكيوتى إل وكذلك الماركرز.

٢- عند وجود أب أصيل لموقع الماركر يصبح من الصعب تتبع اثر الاليل من زوجي كروموسومات الأب الأب الأصيل والتى تنتقل إلى النسل.

٣- ان يكــون الأبوييــن خليطيــن لموقع الماركر نفسه اى يحملا الاليلات نفسها وبالتالى من الصعب تتبع اصل الاليلات الأبوية فى النسل الخليط.
٤- لا يمكن معرفة جينوتيب الكيوتى إل وبالتالي لا يمكن معرفة أي الأبويين خليط لصفة الكيوتى إل.
٥- عدم تحديد طور الارتباط بين الماركر والكيوتى إل.
٦- غياب بعض معلومات عن جينوتيب الماركر او يكون جينوتيب الماركر لعينة بسيطة من العشيرة.
٧- عند وجود اكثر من كيوتى إل نجد ان كل واحدة لها عدد مختلف من الاليلات ولهم تباين مختلف Hetergenious Variance، وقد يكون لهم توزيعات مختلفة كذلك.

مثال :

بفرض وجود كيوتى إل واحدة لها اليلات تجمعية التأثير وخطا يتوزع طبيعيا فــى الجــيل الثانى F2 وبفرض ان y_i القيمة المظهرية للصفة ولا نعرف بالضبط جينوتيــب الكــيوتي إل. وان هــناك ثلاثــة إحتمالات لماركر الجينوتيب وإحتمال حدوثها. و معادلة الكثافة للمنحنى الطبيعى (Probability Density Function, PDF) كالآتي:

Individual	Phenotype	Genotype	P	PDF
١	yi	A	.25	$(y_i;\mu_A,\sigma^2)$
2	yi	B	.50	$(y_i;\mu_H,\sigma^2)$
3	yi	B	.25	$(y_i;\mu_B,\sigma^2)$

$\phi(y;\mu,\sigma^2)=\frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}}\exp(-(y-\mu)^2/2\sigma^2$ هــى معادلــة الكــثافة للمنحــنى الطبــيعى (Probability Density Function, PDF) للمنحنى الطبيعى بمتوسط μ وتباين σ^2 ونجد ان

$$\mu_H = 1/2\ (\mu_A + \mu_B)$$

اى ان متوسط الجينوتيب H هو 1/2 مجموع متوسطى الجينوتيب A.B حيث نفترض التأثير التجمعى للاليلات وبأخذ المجموع الموزون للمكونات الثلاثة يمكننا إيجاد معادلة الكثافة المختلطة كالآتي:

$$f_{mix}(y_i)=\frac{1}{4}\phi(y_i;\mu_A,\sigma^2)+\frac{1}{2}\phi(y_i;\frac{\mu_A+\mu_B}{2},\sigma^2)+\frac{1}{4}\phi(y_i;\mu_B,\sigma^2)$$

وتصبح الحدبة العظمى المختلطة للملاحظات $Y_1,Y_2,\ \ ..,Y_n$ معا هو حاصل ضرب الحدبة العظمى للملاحظات الفردية اى:

$L=\prod_{i=1}^{n} f_{mix}(y_i)$ ويمكن الرمز للتوزيع الطبيعى للتراكيب الثلاثة A, H, B هى (·) A، (·) H، (·) B على التوالى.

كيف يمكن تقدير ثوابت النموذج الخليط ؟

يمكن تقدير ثوابت باستخدام طريقة الحدبة العظمى التى تعظم لوغاريثم الحدبة العظمى كالاتى:

١- إيجاد معادلة الحدبة العظمى للنموذج المختلط .
٢- إيجاد اللوغاريثم للحدبة العظمى للنموذج المختلط.
٣- تفاضل اللوغارثم بالنسبة لثوابت النموذج المختلط ثم مساواتها بالصفر لحل هذه الثوابت.

$$0=\frac{\partial}{\partial\theta}l=\frac{\partial}{\partial\theta}\log\left(\prod_{i=1}^{n} f_{mix}(y_i)\right)=\sum_{i=1}^{n}\frac{\partial}{\partial\theta}\log f_{mix}(y_i)$$

وتصبح قيمة

$$\frac{\partial}{\partial\theta}\log f_{mix}(y_i)=\frac{1}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}[.25\phi_A(y_i)+.5\phi_H(y_i)+.25\phi_B(y_i)]$$

$$=\frac{.25}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_A(y_i)+\frac{.5}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_H(y_i)+\frac{.25}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_B(y_i)$$

$$=\frac{.25\phi_A(y_i)}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_A(y_i)+\frac{.5\phi_H(y_i)}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_H(y_i)+\frac{.25\phi_B(y_i)}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_B(y_i)$$

$$P(A/y_i)\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_A(y_i)+P(H/y_i)\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_H(y_i)+P(B/y_i)\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_B(y_i)$$

ويمكن التعرف عليها كمجموع الوزن للحدبة العظمى للتوزيع الطبيعى حيث أن الأوزان هى الاحتمالات الشرطية للجينوتيب معطا القيمة المظهرية الملاحظة P(A/y), P(H/y), P(B/y) والتى تعتمد على قيم θ غير المعروفة.

ولا يمكن حل معادلة الحدبة العظمى تحليليا analyticaly ولكن يمكن إستخدام Expectation-maximization (EM) algorithm. والحقـيقة يمكـن إعتـبار mixture problem مشكلة النموذج المختلط احد الامثلة للبيانات غير الكاملة حيث معلومات الكيوتى إل جينوتيب معلومات غائبة بالمكونات الثلاثة (A,H,B).

والفكـرة الأساسـية للالجوريثم EM algorithm هو إحلال المعلومات غير الكاملـة y_i بمكوناتها الثلاثة الكاملة (yi,B)، (yi,H)، (yi,A) مع وزن المعلومات الكاملـة الـثلاث بالاحتمال الشرطى الخاص أو الحديث Specified or Updated probabilities ويتم التدوير Iteration فى خطوتين:

الأولـى: تسمى خطوة التقدير(Estimation (E step أو خطوة تحديد الأوزان اى يـتم حسـاب الإحتمال الشرطى بإستخدام تقدير $p(A/y_i), p(H/y_i), p(B/y_i)$ الثوابت الحالية current parameter estimates.

الثانـية: تسـمى خطوة التعظيم Maximization (M step) حيث يتم تحديث الـتقديرات للقـيم μA, μB, σ2 اى يـتم إستخدام مثلا: تحليل الانحدار الموزون Weighted Regression Analysis. ويكون حل تلك الثوابت

$$\hat{\mu}_A = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left[P(A/y_i)y_i + P(H/y_i)\frac{1}{2}y_i\right]}{\sum_{i=1}^{n}\left[P(A/y_i) + P(H/y_i)\frac{1}{2}\right]}$$

$$\hat{\mu}_B = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left[P(B/y_i)y_i + P(H/y_i)\frac{1}{2}y_i\right]}{\sum_{i=1}^{n}\left[P(B/y_i) + P(H/y_i)\frac{1}{2}\right]}$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n}\left[\begin{matrix} P(A/y_i)(y_i - \hat{\mu}_A)^2 + P(H/y_i)(y_i - \frac{1}{2} \\ (\hat{\mu}_A + \hat{\mu}_B))^2 + p(\hat{B}/y_i)(y_i - \hat{\mu}_B)^2 \end{matrix}\right]$$

لـو اخـترنا قيم أولية لهذه الثوابت يمكن بذلك بدء الالجوريثم، بفرض إن y^c مـتجه (1* 3n) أى (y1,y1,y1,y2,y2,y2, ,yn,yn,yn) و الرمز c يرمز إلى complete وان β هى متجه 1*p لعوامل الانحدار المراد تقديرها وان X^c هى

مصفوفة (3n*p)، e^c متجه للخطا اما المصفوفة W^c فهى مصفوفة وترية للاحتمالات conditional probabilities الشرطية>

للفرد i مثلا نجد أن النموذج الإحصائي

$$\begin{pmatrix} yi \\ yi \\ yi \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & .5 \\ .5 & .5 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu_A \\ \mu_B \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} e_{i1} \\ e_{i2} \\ e_{i3} \end{pmatrix} .....and..weighted..by$$

$$\begin{pmatrix} P(A/yi) \\ P(H/yi) \\ P(B/yi) \end{pmatrix}$$

حيث ان النموذج الإحصائي للانحدار الموزون Weighted Regression Analysis لل M step

$$y^c = X^c\beta + e^c \quad \&$$

$$weight = W^c$$

$$\hat{\beta} = (X^{(c)'}W^c X^{(c)})^{-1} X^{(c)'}W^c y^c$$

$$\hat{\sigma} = \frac{1}{n}(y^{(c)} - X^{(c)}\hat{\beta})'W^{(c)}(y^{(c)} - X^{(c)}\hat{\beta})$$

التوزيع المختلط للنموذج الخليط :

ويمكن تطبيق التوزيعات المختلطة للنموذج الخليط لإيجاد مايسمى التأثير الخليط لمعادلات النموذج المختلط Mixed-ffect mixture model equations من المعروف ان النموذج الخليط هو:

$$Yi = X_j B + Z_j U + \epsilon_j \qquad (1)$$

Y_j هى الملاحظة B, U J= 1,2, .., n متجهات التاثيرات المحددة والعشوائية.

X مصفوفة تربط الملاحظة بالتاثيرات المحددة.

Z مصفوفة تربط الملاحظات بالتاثيرات العشوائية.

وفـــى حالة وجود كيوتى إل لبيانات أنصاف الاشقة نجد ان النموذج المختلط هو:

$$Y_j = X_j^{'}B + Z_j^{'}U + \sum_{f=1}^{F}\eta_j^{'f} h_{jf}^{'}\alpha_f + \sum_{r=1}^{R}\zeta_j^{'r} W_{jr}^{'} V_r + \varepsilon_j \quad (1)$$

والجزء الأول هو النموذج الخليط لهندرسون كما سبق ذكره.

المتجه α_f (f=1,2, , F) يمثل التأثير المحدد.

المتجه V_r (r=1,2, .R) يمثل التأثير العشوائي.

المتجه h_{jf} يربط متجه الثوابت α_f للملاحظة Y_j وهو الصف j للمصفوفة H_f.

المتجه W_{jr} يربط المتجه V_r للملاحظة Y_j وهو الصف j للمصفوفة W_r.

ζ ، η مؤشرات لمتغيرات للعوامل المحددة Indicator variables for fixed effects. α_f, v_r تشير الى العلاقة للمتجهات غير المعروفة مع الملاحظة Yj.

ε_j هـــى التأثـــير المتـــبقى Residual effect وقد وجد ان معادلات النموذج المخـــتلط للتأثـــيرات الخلـــيطة mixed effect mixture model (MEMME) equations هى المعادلة (٢)

$$\begin{pmatrix} X'\sum^{-1}X & X'\sum^{-1}Z & X'\sum^{-1}U_\alpha & X'\sum^{-1}U_v \\ Z'\sum^{-1}X & Z'\sum^{-1}Z+\sum_u^{-1} & Z'\sum^{-1}U_\alpha & Z'\sum^{-1}U_v \\ U_\alpha^{'}\sum^{-1}X & U_\alpha^{'}\sum^{-1}Z & V_{\alpha\alpha} & V_{\alpha v} \\ U_v^{'}\sum^{-1}X & U_v^{'}\sum^{-1}Z & V_{v\alpha} & V_{vv}+\sum_v^{-1} \end{pmatrix}^{|t|} * \begin{bmatrix} \beta^{|t+1|} \\ U^{|t+1|} \\ \alpha^{|t+1|} \\ V^{|t+1|} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'\sum^{-1}Y \\ Z'\sum^{-1}Y \\ U_\alpha^{'}\sum^{-1}Y \\ U_v^{'}\sum^{-1}Y \end{bmatrix}^{|t|} \quad (2)$$

حيث ان l هو رقم الدورة من التدوير Iteration

$$U_{\alpha} = [U_{\alpha f}]$$
$$U_{v} = [U_{Vr}]$$
$$V_{\alpha\alpha} = [V_{\alpha f}\alpha_{g}]$$
$$V_{vv} = \left[V_{v_r} V_{s}\right] and$$
$$V_{\alpha v} = V'_{v\alpha} = \left[V_{\alpha_f v_r}\right]$$

بفرض معرفة

$$\Sigma_{v} = \begin{bmatrix} \Sigma_{v1} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \Sigma_{v2} & 0 & 0 \\ \dots\dots & \dots\dots & \dots\dots & \dots\dots \\ 0 & 0 & 0 & \Sigma_{vR} \end{bmatrix}$$

$$U_{\alpha f} = H_{f} * \Pi d^{f}$$
$$U_{vr} = W_{r} * \Pi d^{F+r}$$
$$V_{\alpha_f \alpha_g} = H'_{f} \Sigma^{-1} [H_{g} * \Pi (d^{f} \# d^{g})]$$
$$V_{\alpha_f v_r} = V'_{v_r \alpha_f} = H'_{f} \Sigma^{-1} [W_{r} * \Pi (d^{f} \# d^{F+r})]$$
$$V_{v_r v_s} = W'_{r} \Sigma^{-1} [W'_{s} * \Pi (d^{F+r} \# d^{F+s})]$$

حيث ان المتجهات Vectors هى اعمدة المصفوفة D وهى مصفوفة المؤشرات والتى تحتوى قيم المؤشرات للمؤثرات المختلطة V_r & α_f.

والمصفوفة D تصبح المعادلة (3)

$$D = \begin{bmatrix} d_1^1 & d_1^2 & .... & d_1^F & d_1^{F+1} & d_1^{F+2} & ... & d_1^{F+R} \\ d_2^1 & d_2^2 & .... & d_2^F & d_2^{F+1} & d_2^{F+2} & .... & d_2^{F+R} \\ .... & .... & .... & .... & .... & .... & .... & .... \\ d_L^1 & d_L^2 & .... & d_L^F & d_L^{F+1} & d_L^{F+2} & & d_L^{F+R} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ ...... \\ d_L \end{bmatrix} \quad (3)$$

حيــث ان المتجهات Vectors d^f, d^g, d^{F+r} and d^{F+s} هى اعمدة المصفوفة D فمثلا d^f هو ال f th عمود للمصفوفة D. و $\Pi=\{\pi_{jl}\}_{n*l}$. حيث

$$\phi = \text{normal density}, \quad \pi_{jl} = \frac{p_{jl}\phi(y_j / \mu_{jl}, \sigma_j^2)}{\Sigma_{l=1}^{L} p_{jl}\phi(y_j / \mu_{jl}, \sigma_j^2)}$$

$$\pi_{jl} = \text{posterior probability} \quad (4)$$

والبســط فــى المعادلـــة السابقة يمثل الاحتمال الشرطى للملاحظة J للقسم l مضــروبا فــى الكثافة لمعادلة المنحنى الطبيعى () Normal Density Function للملاحظــة Y معطــا المتوسط والتباين للقسم I التى تقع فيه الملاحظة بينما يمثل المقــام فى المعادلة مجموع قيم البسط لكل الاقسام (L. ,l = 1). وبذلك نجد ان فــى الاحتمال البعدى posterior probability الملاحظة y_j تقع فى القسم I معطا ملاحظة البيانات والتقدير الحالى للتأثيرات غير المعروفة θ والتى تشمل (v ، u ، α ، β)=θ. وحساب π_{jl} هو الخطوة step E فى EM الجوريثم. بينما ال M step فى EM الجوريثم هو تعظيم maximize

$$E[\log f(y_c, u, v) / y, \theta^{'}) \, \alpha \, \Sigma_{j=1}^{n} \Sigma_{l=1}^{L} \log[\phi(y_j / \theta, \sigma_j^2) p_{ij} / \pi_{jl}$$
$$-1/2u'\Sigma_u^{-1}u - 1/2\sum_{r=1}^{R} v_r^{'} \sum_{r=1}^{-1} v_r$$

وتفاضـــل المعادلـــة الســـابقة بالنسبة للثوابت المراد تقديرها يعطى معادلات MEMME السابقة المعادلة ٢) ويلاحظ ان الرموز السابقة هى الرمز # يشير إلى ضــرب هامرد .Hamard product. وهو ضرب عنصر بعنصر لمصفوفتين لهما الرتــبة نفسها element by element product بينما الرمز "*" هو ضرب عنصر

بعنصـــر لكـــل عمـــود فـــى مصفوفة بمصفوفة من عمود فمثلا لو ان المصفوفة $A=\{a_{ij}\}_{n*m}$ والمصفوفة العمود $b=\{b_i\}_{n*1}$ ويصبح حاصل ضرب Ab هو $Ab=\{a_{ij}b_i\}_{n*m}$.

خطوات استخدام النموذج المختلط :

والمثالي التالي يوضح خطوات إستخدام MEMME:

Animal	Sire	Dam	Marker Genotype	Observation
الحيوان	الطلوقة	الام	جينوتيب الماركر	الملاحظة
1	-	-	12	-23
2	-	-	34	17
3	1	2	13	-13
4	1	2	23	7
5	4	3	33	12

معدل التوافيق الوراثية بين الكيوتى إل والماركر هو ١.

وبفـــرض ان تبايـــن التأثـــير المتبقى، وتباين التأثير البولوجينى، وتباين تأثير الیلات الكيوتى إل هو على التوالي 5, 14, 75, 88, 177 على التوالى. الحيوان 2 & 1 همـــا مؤسيســـا العشـــيرة. Founder of the population لان الآباء غير معروفة. وبفـــرض ان الفرد الأول يحمل اليلى الكيوتى إل Q^1, Q^2 بينما الفرد 2 يحمل الاليلين Q^3, Q^4.

يتم حساب حل النموذج المختلط بالخطوات التالية:

أولا: الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتى إل:

طريقة التأثير الخليط لمعادلات النموذج المختلط MEMME لتطبيق (م ا س) MAS يتطلـــب معـــرفة الاحتمال الشرطى Conditional probability لجينوتيب الكـــيوتى إل فى وجود معلومات الماركر وذلك للاستدلال على اليلات الكيوتى إل المنـــتقلة مـــن الآباء للأبناء بناءً على معلومات الماركر. بفرض وجود كيوتى إل مرتبطة السيادة Codominant Marker له معدل توافيق C حيث :

$$M_i^1 \textit{ linked with } Q_i^1 \ \& \ M_i^2 \textit{ linked with } Q_i^1 .$$

لو ان اليل الماركر M_i^1 إنتقل من الاب i للنسل j نجد ان الاحتمال الشرطى ان النســل يســتلم الــيلات الكــيوتى إل $Q_i^1 \& Q_i^2$ هــى 1-c و c على التوالى. وإحــتمالات لانــتقال $Q_i^1 \& Q_i^2$ هــو c و1-c لــو كان اليل الماركر M_i^2 هو المنتقل.

الاحــتمال الشرطى لاليلات الكيوتى إل معطا الهابلوتيب المنتقل للماركر التى تحصر الكيوتى إل كما فى الجدول الاتى:

Marker Haplotype M	Haplotype Frequency	Transimition Probability	
		$Tr(Q_i^1/M)$	$Tr(Q_i^2/M)$
$M_i^1-N_i^1$	1-c/2	$(1-c_1)(1-c_2)/(1-c)$	$c_1c_2/(1-c)$
$M_i^1-N_i^2$	c/2	$(1-c_1)c_2/2$	$c_1(1-c_2)/c$
$M_i^2-N_i^1$	c/2	$C_1\ (1-c_2)\ /2$	$(1-c_1)c2\ /c$
$M_i^2-N_i^2$	1- c/2	$c_1c_2/(1-c)$	$(1-c_1)(1-c_2)/(1-c)$

c معــدل التوافــيق بين الماركرين.، c1، c2 معدل التوافيق بين الكيوتى إل والماركــرز M, N الماركــرز الأبوية والكيوتى إل فى حالة التجاذب Coupling وتوزيــع اليلات الكيوتى إل لكل نسل فى العشيرة يمكن الاستدلال عليه من توزيع اليلات الكيوتى إل لأبائهم واليلات الماركر الموروثة من الآباء. وان إحتمال النسل j للحصــول على اليل الكيوتى إل A^+ من الاب S هو المعادلة رقم I وان إحتمال النسل j للحصول اليل الكيوتى إلA^+ من الام d هو المعادلة II.

$$\text{I) } pr(Q_j^p \equiv A^+) = pr(Q_s^p \equiv A^+)Tr(Q_s^p / M) +$$
$$pr(Q_s^m \equiv A^+)[1 - tr(Q_s^p / M)]$$
$$\text{II) } pr(Q_j^m \equiv A^+) = pr(Q_d^m \equiv A^+)Tr(Q_d^m / M) +$$
$$pr(Q_d^m \equiv A^+)[1 - tr(Q_d^m / M)]$$

حيث ان:

$$Q_j^p, Q_j^m, Q_s^p, Q_s^m, Q_d^p, Q_d^m$$

هـــى الـــيلات النسل الابوية Descendant's paternal allele واليلات النسل الأمويـــة Descendant's maternal allele، اليل الأب الأبوي father's paternal allele، اليل الأب الأموي father's maternal allele، اليل الأم الأبوي mother's paternal allele واليل الأم الأموي mother's maternal allele.

وان $Tr(Q_s^p / M)$ هـــو إحـــتمال الانتقال الشرطى للنسل بان يستلم اليل الأب لابـــوى للكـــيوتى إل QTL معطـــا إنتقال الماركر هابلوتيب. و $Tr(Q_d^m / M)$ هو إحتمال الانتقال الشرطى للنسل بان يستلم اليل الأم الأموي للكيوتى إل معطا إنتقال الماركر هابلوتيب. ويلاحظ ان $Tr(Q_s^p / M)$ و $Tr(Q_d^m / M)$ يصبحا c, 1-c فى حالة الماركر الفردى Single Marker.

والجدول الاتى يمثل الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتى إل للأفراد (c=.1) فى المثال السابق:

Animal	Paternal allele الأليل الأبوى				Maternal allele الأليل الأموى			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1	0	0	0	0	1	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	1
3	.9	.1	0	0	0	0	.9	.1
4	.1	.9	0	0	0	0	.9	.1
5	.09	.01	.81	.09	.01	.09	.81	.09

ثانيا: المصفوفة D هى:

وهى التوافيق الزوجية لتأثيرات اليلات الكيوتى إل

$$D = \begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 2 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 2 \end{bmatrix}$$

والجـدول الـتالى يبيـن الاحـتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب لكل فرد (عناصر Π) للدورة الاولى من التدوير first iteration:

الكيوتى إل جينوتيب Genotype QTL

Animal	11	12/21	13/31	14/41	22	23/32	24/42	33	43/43	44
1	0	10000	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	10000	0
3	0	0	8100	900	0	900	100	0	0	0
4	0	0	900	100	0	8100	900	0	0	0
5	9	82	810	90	9	810	90	6561	1458	81

12/21 هى الجينوتيب 12 أو 21 وكذلك 13/31 هى الجينوتيب 13 أو الجينوتيب 31 وهكـذا وبـناءا علـى الاحتمالـت الشرطية والمصفوفة D مع التقديرات الحالية للتأثيرات غير المعروفة، يتم حساب قيمة المصفوفة Π باستخدام المعادلة (4).

والاحـتمالات الشـرطية فـى الجدول السابق والمصفوفة D تكون ثابتة خلال دورات الالجوريثم EM algorithm. بينما Π ، U_a، V_{aa} تتغير مع التدوير change with iteration. وباسـتخدام الصفر للقيم الاولية لكل قيم المواقع تصبح المصفوفـة U_a، V_{aa} هى :

$$U_a = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 \\ .9 & .1 & .9 & .1 \\ .1 & .9 & .9 & .1 \\ .1 & .1 & 1.62 & .18 \end{bmatrix} ،$$

$$V_{aa} = \begin{bmatrix} 2.10 & 1.01 & .98 & .11 \\ 1.01 & 2.1 & .98 & .11 \\ .98 & .98 & 5.73 & 1.15 \\ .11 & .11 & 1.15 & 1.40 \end{bmatrix}$$

ثالثا: وتصبح الدورة الأولى من معادلات النموذج المختلط للتأثيرات الخليطة هى:

$$\begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{U}_1 \\ \hat{U}_2 \\ \hat{U}_3 \\ \hat{U}_4 \\ \hat{U}_5 \\ \hat{a}_1 \\ \hat{a}_2 \\ \hat{a}_3 \\ \hat{a}_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 5 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2.1 & 2.1 & 4.42 & 1.38 \\ 1 & 5 & 2 & -2 & -2 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 5 & -2 & -2 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & -2 & -2 & 6 & 1 & -2 & .9 & .1 & .9 & .1 \\ 1 & -2 & -2 & 6 & 1 & -2 & .9 & .1 & .9 & .1 \\ 1 & 0 & 0 & -2 & -2 & 5 & .1 & .1 & 1.62 & .18 \\ 2.1 & 1 & 0 & .9 & .1 & .1 & 14.1 & 1.01 & .98 & .11 \\ 2.1 & 1 & 0 & .1 & .9 & .1 & 1.01 & 14.1 & .98 & .11 \\ 4.42 & 0 & 1 & .9 & .9 & 1.62 & .98 & .98 & 17.73 & 1.15 \\ 1.38 & 0 & 1 & .1 & .1 & .18 & .11 & .11 & 1.15 & 13.41 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 0 \\ -2.1 \\ 17 \\ -13 \\ 7 \\ 12 \\ -328 \\ -168 \\ 31.04 \\ 1856 \end{bmatrix}$$

رابعا: حساب القيمة التربوية BV :

يتم حساب القيمة التربوية من المعادلة التالية

$$BV = u + \Pi D A$$

حيث u تمثل التأثير البولوجينى، و Π مصفوفة الاحتمالات الشرطية، والمصفوفة D مصفوفة تحتوى كل قيم مؤشرات المتغيرات للتأثيرات المختلطة α_f ، v_r .

الجدول الآتي يمثل التأثير البولوجينى والقيمة التربوية المحسوبة رقم الحيوان

MEMME	1*	2	3	4	5
البولوجينات	-5.84	5.84	-1.49	2.15	2.50
القيمة التربوية	-8.32	8.32	-1.67	3.17	5.61

والجدول التالي يبين الحل لثلاث دورات

μ	U1	U2	U3	U4	U5	a1	a2	a3	A4
-1.257	-5.846	5.846	-1.485	2.357	2.518	-1.725	-.738	1.536	.926
-1.275	-5.841	5.841	-1.487	2.350	2.498	-1.741	-.738	1.555	.923
-1.275	-5.840	5.840	-1.487	2.349	2.498	-1.740	-.738	1.556	.922

مزايا النموذج المختلط :

وهناك مزايا للنموذج المختلط وهى:

أولا: تقيــيم MEMME هــو تقدير تدويرى Iterative ويعتمد على إستخدام EM algorithm مــع وجــود جينوتيب QTL غير معروف ومعاملته كبيانات غير معروفة Missing Data.

ثانيا: كل متجه α_f vector هو جزء من المتجه α يجب ان يعامل منفصلا عن حساب المصفوفة U, V وكذلك بالنسبة للمتجه v_r من المتجه V. (ولايمكن ملاحظة ذلك فى معادلة هندرسون).

ثالثا: معادلات α و V فى النموذج المختلط لها تركيب مختلف حيث ان

$$V_{\alpha\alpha} \neq U_{\alpha}^{'}\Sigma^{-1}U_{\alpha}, V_{vv} \neq U_{v}^{'}\Sigma^{-1}U_{v}, V_{\alpha v} \neq U_{\alpha}^{'}\Sigma^{-1}U_{v}$$

رابعــا: يســاعد الــنموذج المختلط على إستخدام طريقة لتقييم الكيوتى إل وتقدير تأثــيرها وكذلك تقدير وضع النموذج الجاميطى غير المختلط للتقييم بإستخدام الماركر الوراثى.

خامســا: لا يقيم النموذج المختلط فقط نموذج الحيوان–الكيوتى إل Animal-QTL-effect model وهــو نموذج غير مختلط (non mixture model) والذى يحدد تاثير البلات الكيوتى إل لكل موقع، ولكل حيوان، ولكن يحدد أيضا مثلا: النموذج المخــتلط للــنماذج Sire- QTL-effect model، Sire-dam-QT effect models، Grandsire-QTL-effect models، Fouder-QTL effect models ...... وهكذا.

سادســا: مــرونة النموذج المختلط فى تقدير تأثير الكيوتى إل لاجيال مختلفة وكما يســمح أيضــا باستخدام الكيوتى إل كعامل عشوائى random أو عامل محدد fixed.

سابعا: تطبيقات النموذج المختلط ليست فقط فى (م ا س) MAS، ولكن يمكن تطبيقه فـــى خرائط الكيوتى إل، فيمكن إستخدام معادلاته فى تقدير تأثير الكيوتى إل فـــى خرائط السافات الوراثية. وكذلك معادلات خرائط المسافات الوراثية فى نظـــم الخلـــط الرجعى، ومعادلات خرائط المسافات الوراثية لنظم الخلط بين خطيـــن two line crossing. ويستخدم كاداة إحصائية للعوامل المستقلة غير المعـــروفة uncertain independent variable فـــى تقييم الطلائق فى حالة الآبـــاء غير المعروفة أو مجموعات الطلائق المتعددة (joining) والتى تظهر فى تربية ماشية اللحم.

ثامـــنا: تحلـــيل النموذج المختلط للكيوتى إل فى عشائر الاباعد يكون معقدا وذلك لان جينوتيـــب الكـــيوتى إل غير معروف uncertain ووجود قرابة بين أفراد القطيع لذلـــك يجـــب ان يكـــون الـــتوزيع للملاحظات ممثلا فى معادلة الحدبة العظمى Likelihood function. وبالـــتالى مـــتجه الملاحظـــات الممـــثل فـــى توزيعات الجينوتيـــب الممكـــنة هـــو توزيعـــات مخـــتلطة لمتجه الملاحظات Mixture Distributions of observation vector، ويكـــون عدد مكونات التوزيع المختلط (عـــدد توزيعـــات جينوتيـــب الكيوتى إل) فى معادلة الحدبة العظمى كبيرا جدا، ويـــتزايد مـــع حجـــم العيـــنة. حيث لا يمكن إيجاد تحليل لمعادلة الحدبة العظمى بالضـــبط، وهـــنا يمكـــن التعبـــير عن توزيع متجه الملاحظات كحاصل ضرب توزيعات الملاحظات الفردية حيث $f(y,u,v)=f(y/u,v)f(u)f(v)$ يمكن تعظـــيمها. وحيـــث ان $f(y/u,v)$ يمكـــن إيجادها كحاصل ضرب التوزيعات للملاحظـــات الفـــردية لان Y_{ij} مستقلة عن بعضها البعض معطا U,V ولو كانت مصـــفوفة التبايـــن، والتباين المشترك Variance-covariance matrix مصفوفة وتـــرية. عندئذ نجد ان $y/\beta,u,\Sigma \sim N(X\beta+ZU,\Sigma)$ وكما هو الحال فى معادلـــة النموذج الخليط Mixed linear model مما يجعل تركيب معادلة الحدبة العظمى اكثر سهولة.



الباب الثانى عشر
الماركرز و التنوع الوراثي

الباب الثانى عشر

الماركرز و التنوع الوراثي

Markers and Genetic Diversity

تلعـــب الماركــــرز دورا هامـــا فـــي دراسة التنوع الوراثي وتحديد الأجناس والأنـــواع المخـــتلفة وكذلـــك تحديد وشرح نظم التوطين Domestication ونظم الهجـــرة للأنـــواع المخـــتلفة فـــى المناطق الجغرافية المختلفة وهناك ثوابت هامة للماركرز يجب تقديرها عند دراسة التنوع الوراثي وأهمها:

١- عـــدد الأليلات وتكرارها لكل موقع ،وكذلك عدد التراكيب الوراثية وتكرارها لكل موقع.
٢- حجـــم الألـــيل والمـــدي الذي يتراوح فيه حجم الأليل،والعدد الفعال للأليلات Effective Number of allele.
٣- رقم الكروموسوم الذي يقع فيه الماركرز.
٤- التـــتابع Sequencing بالنســـبة لقواعـــد الدنـــا-ال DNA لكل ماركرز في الأجناس أو الأنواع المختلفة
فمثلا: (هل هذا التتابع مختلف في الأبقار عنه في الجاموس).
٥- درجـــة الخلـــط Heterozygozity وكذلك محتوي المعلومات للتعددية الجينية Polymorphism Information Content (PIC).
٦- خرائط المقارنة Comparative mapping.

التماثلية فى التنوع الوراثي Orthologus In DNA Sequence :

يســـتخدم تـــتابع القواعد وتكرارها في الدنا لمعرفة التماثلية Orthologus بين الدنـــا للأجـــناس والأنـــواع المخـــتلفة (الجـــاموس والبقر مثلا) بمعني أن يستخدم مايكروســـاتليت ماركر Microsatellite لموقع معين أو لعدد من المواقع لمعرفة تـــتابع القواعـــد فـــي الجاموس مثلا مع نظيرتها في البقر. مما يعني وجود تتابع بســـيط Simple Repeat للدنـــا بين الأجناس المختلفة وكلما زادت نسبة التماثلية (٧٠% <) بين الدنا للأجناس المختلفـــة، كلما دل ذلك علي أن الماركر المستخدم لـــتحديد ترتيـــب القواعـــد لموقع معين في جنس معين يمكن أن يستخدم نفسه في تحديد موقع متماثل في جنس أخر وهذا إحدي خطوات التحليل الجينومي المقارن

بيــن الأجــناس المختلفة وبالتالي يمكن معرفة مدي التطور وكذلك معدل حدوث الطفرة للأجناس المختلفة.

هناك إستخدام للبصمة الوراثية Genetic Fingerprinting وذلك بتعظيم السيادة maximizing Dominance فـــى الخلـــط وتعظـــيم قـــوة الهجيـــن Maximizing Heterosis وذلـــك بالتنـــبأ بقوة الهجين من التنوع الوراثى على مستوى الدنا الخلط Heterozygozity. تـــدل نســـبة التركيب الخليط (H) في العشيرة علي معدل تكرار المواقــع الخلـــيطة فـــي العشيرة، ويمكن إستخراج نسبة التركيب الخليط في العشيرة بإستخدام المعادلة الآتية:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i 2$$

n =عدد الاليلات، P_i = تكرار الاليل i في العشيرة

ويكـــون محتوي المعلومات Polymorphism Information Content (PIC) في التعددية الاليلية

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} 2P_i^2 P_j^2 \le [(n-1)^2(n+1)]/n^3$$

n = عـــدد الاليلات، Pi = تكرار الاليل i ، Pj = تكرار الاليل j والتى هى إحتمال ان أحد الآباء خليط الماركر Marker Heterozygote وزيجته لها جينوتيب مخـــتلف (اى تزاوج رجعى، أو تام المعلوماتية مع إستبعاد عائلات الخلط الداخلى) وفـــى هـــذه الحالة يمكن ان نميز بين اليلات الماركر البديل للأب الأول ، فى كل النسل من هذا الخلط.

والحد الأعلى Upper bound $[(n-1)^2(n+1)]/n^3$ يحدث عندما تكون كـــل اليلات الماركر لها تكرار متساوى $P_i = 1/n$.

وتكون نسبة التزاوج المعلوماتى التام Proportion of fully informative matings (PFIM) حيـــث تكـــون اليلات الماركر من كل من الأبويين يمكن تميزها فى كل النسل الناتج ويمكن حساب تلك النسبة كالآتي:

$$PFIM = \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} 2P_iP_j[(\sum_{k=1}^{n-1} \sum_{l=k+1}^{n} 2p_k p_l) - 2p_i p_j] \le [(n-1)(n-2)(n+1)]/n^3$$

حيث ان i , j, k ترمز للاليلات المختلفة للماركر.

والأب معلوماتي الماركر ليس من الضروري أن يكون معلوماتيا للكيوتى إل. والكـيوتى إل التى لها n_Q، يكون ال i^{th} اليل منهم له تكرار q_i ويكون إحتمال أن أب خليط للكيوتى إل (فى تزاوج عشوائى) هو :

$$(1-\sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2) \leq (1-\frac{1}{n_Q})$$

والعشيرة والتى يكون الآباء فيها فى حالة إتزان عشوائى، يكون إحتمال (على الأقل) واحد من الاباء خليط مزدوج (QTL/Marker) للكيوتىإل/ ماركر، واليلات الماركـر الـبديلة من هذا الأب لا يمكن تميزها فى كل النسل إى احتمال انه على الأقل أب واحد تام المعلوماتية هو:

$$\text{Pr(at least one parent fully Informative)} = PIC*(1-\sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2)$$

وإحتمال ان يكون الأبويين تاما المعلوماتية هو

$$\text{Pr(both parents fully informative)} = PFIM*(1-\sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2)^2$$

وعموما نتوقع ان معظم الآباء غير معلوماتيا لتوليفة (الكيوتى إل/ ماركر).

مثال:

عشيرة ينعزل فيها خمسة اليلات لموقع لماركر عندئذ تكون قيمة

$PIC=(4^2 *6)/5^3 = .768$ and $PFIM= 4*3*6/5^3 =.576$

لذلـك للحصول على ١٠٠عائلة معلوماتية الماركر لأب واحد على الأقل هو: 130=100/.768 عائلـة مسـحوبة عشـوائيا يجـب فحصها. ولو أردنا ان تكون العـائلات معلوماتية لكل من الأبويين يجب فحص 174=100/.576 عائلة، ذلك لو كان هناك خمسة اليلات متساوية التكرار.

لو فرضنا ان الماركر مرتبط لكيوتىإل وله اليلات ثلاثة لهم التكرار، 2 ,.3,.5. يصـبح إحـتمال ان يكـون الفـرد خليط للكيوتى إل هو $(.5^2+.3^2+.2^2)$ - $\neq$ .62. وللحصـول علـى 100 عائلـة والـتى يكون فيها إحدى أو كل من الأبويين تام

المعلوماتــية يتطلــب فحص على الاقل 130/.62 ≈ 210 عائلة و174/.62=453 عائلة عشوائية على الترتيب.

وتستخدم قيمة PIC لتحديد كمية البلومورفيزم اى هى مقياس للتعددية الاليلية أو مقــياس لــتكرار الــيلات الجيــن أو الماركرز. ويعتبر الماركر متعدد الاليلية Polymorphic إذا كانــت H >0.1 بيــنما يعتبر الماركر Highly Polymorphic متعدد الاليلية جدا، إذا كانت H>.7. ويتضمن التعريف أن الماركر متعدد الاليلية عندما يكــون الالــيل الأكثر تكرارا له تكرار أقل من 95% وتصبح قيمة $H=1-(.95)^2=0.1$ كمــا يعتبر أيضا الماركر متعدد الاليلية جدا Highly Polymorphic عندما يكون الاليل الاكثر تكرارا له تكرارا أقل من 55%.

يمكن تقدير قيمة غير متحيزة لنسبة الخليط وتباينها لعينة حجمها n

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1}(1 - \sum_{i=1}^{l} \hat{P}_i^2)$$

$$V(\hat{H}) = \frac{n}{(n-1)^2}\{\sum_{i=1}^{l} \hat{P}_i^2 - [\sum_{i=1}^{l} \hat{P}_i]^2\}$$

ولــو كــان معامل التربية الداخلية هو F تصبح قيمة H المتوقعة في العشيرة H (1-F) حيــث أن H هــى مقياس للخلط فى العشيرة بالنسبة لموقع معين. وكلما زادت نسبة H تقل نسبة الثبات فى العشيرة بالنسبة لموقع معين أو قلة نسبة التماثل فــي العشــيرة وأن قــيمة PIC هي أيضا دليل يقيس التعددية الاليلية لجين معين وبالــنظر لقــيمة PIC وقــيمة H يمكن ملاحظة العلاقة بينهما لذلك عندما تكون PIC>.5 مــرتفعة يكــون دليلاً على تعددية مرتفعة أو بلومورفيزم مرتفع بالنسبة لجيــن معيــن. بيــنما لو كانت .25<PIC<.5 هذا يدل على أن الموقع فى مستوى متوسط للبلومورفيزم. وتعتبر قيمة .25 قيمة منخفضة البلومورفيزم.

وتعتــبر قــيمة H مقياسًــا خاصًا بأليل معين، بينما قيمة PIC مقياسًا خاصًا بموقع معين علي الكروموسوم حيث تمثل H حدا أعلي لقيمة PIC.

ويمكــن تقديــر H,PIC لكــل بريمر او لكل ماركر عند إستخدام طريقة المايكروســاتليت Microsatelite المســتخدمة للتميــيز بين عشائر الأجناس، والأنــواع المخــتلفة، حيــث أن دراسة الخصائص الوراثية لعشائر الأجناس، والأنــواع المختلفة يساعد علي تقييم الإختلافات، والتباين الوراثي بين العشائر المخــتلفة. وهــذا عامل مهم في تحديد إستراتيجيات التربية، وكذلك في برامج

المحافظـــة علي الأنواع وخصوصا في قطعان الماشية والأغنام والماعز والتي يستخدم معها تقنيات مثل التلقيح الصناعي، ونقل الأجنة والانتخاب، والتي تقلل من التباين الوراثي في العشيرة.

ويمكـــن حســـاب التنوع الوراثي Genetic Diversity كدالة في قيمة الخليط حيث أن قيمة التنوع الوراثي هى:

حيـــث ان Pij تكـــرار الاليل i عند الموقع j و L تمثل عدد الاليلات وقيمة n تمثل عدد المواقع.

الماركر المعلوماتي Informative Marker :

يعتـــبر الماركـــر معلوماتـــيا عـــندما يـــتم التقيـــيم بطريقة تؤكد أن أليل من الفـــرد تـــوارث مـــن الأب أو مـــن الأم، وهذا يحدث عندما يكون الأب خليط وله طـــور معروف. وان الفـــرد نفسه له طور معروف. وإحتمال أن يكـــون الماركر معلوماتـــيا هـــو دالة في عددالاليلات m عند موقع الماركر ويكون الهم التكرارات $P_1, P_2, \ldots, P_m$ عندئذ تصبح S هى

$$S = 2\sum_{i=1}^{m-1}\sum_{j=i+1}^{m}(p_i p_j(1-p_i p_j)^2)$$

$$D = -\ln(I)$$

وتصـــبح قـــيمة S عـــند وجـــود أليليـــن فقـــط لها التكرارات P_1،P_2 هي $S = 2p_1p_2(1-p_1p_2)^2$ وهـــناك علاقـــة بين قيمة S وقيمة PIC ولكن قيمة PIC تأخذ في اعتبارها إذا كان الأب خليط، وأن النسل له طور معروف Coupling or (Repulsion) بيـــنما تأخذ S في إعتبارها إذا كان للأب طور معروف أم لا. لذلك يعتـــبر الماركـــر له قوة معلوماتية أقوي Potentially Informative إذا كان الأب خليط وله طور معروف. وتعتبر قيمة S هي القيمة المتوقعة للخلط في وجود إتزان (هاردي واينبرج) في العشيرة أي تصبح S = H.

حيث n = عدد الاليلات، Pi = تكرارالاليل i في العشيرة.

ويكـــون الماركر غير كامـــل المعلوماتية Incomplete Informative عندما تكون الأطوار Coupling or Replusion غير مرئية، لوجود السيادة وهناك حالة خاصـــة لغـــياب المعلومـــات عـــن الماركـــر هـــو الانـــتخاب للتراكيب الوراثية

Selective Genotyping حيـث تجمع بيانات الماركر فقط للقيم المظهرية الطرفية Extereme Phenotyping Value.

أنواع التزاوج للماركر المعلوماتى :

١- تزاوج تام المعلوماتية Full Informative (MiMj*MkMl)

ويكـون فـيه الآبـاء خليطًا ولهم ماركر مختلف ويكون النسل معلوماتيا فى التمييز بين الاليلات البديلة لكل من الأبويين.

٢- التزاوج الرجعى Backcross (MiMj* MkMk)

ويكـون إحدى الأبويين له ماركر خليط، بينما الأب الآخر له ماركر أصيل. ويكون النسل كله معلوماتيا فى التمييز بين الآباء الخليطة للاليلات البديلة.

٣- التزاوج الداخلى Intercross (MiMj*MiMj)

وكل من الأبويين لهما الماركر الخليط نفسه. ويكون النسل الأصيل معلوماتيا فى التمييز بين اليلات الأب البديلة.

مقاييس المعلوماتية Measures of Infrmativnes :

أن الفـرق الرئيسـى بين تحليل خليط الخطوط المرباة تربة داخلية Crosses Inbred Lines مقـابل العشائر المرباة تربية متباعدةOutbred population هو: أن الآبـاء فى الأول تكون متجانسة بينما فى الأخيرة تكون وراثيا متباينة ونتائج هذا التمييز هو:

١- ان هـناك جـزء فقـط مـن الآباء من العشيرة المرباة تربية متباعدة يكون معلوماتيا. ويجب ان يكون الاب خليطا (عند موقع الماركر وموقع الكيوتى إل مرتـبطة معه حتى يمكن للأب أن يكون مصدرا للمعلومات المرتبطة وراثيا. حيـث يمكـن للماركـر المصاحب للصفة ان يظهر فى النسل. وهناك جزء عشـوائى فقط من الآباء من العشيرة المتباعدة Outbred population يكون خلـيطا، بينما يكون F1 للخطوط الأصيلة Inbred Lines خليطا لكل المواقع، والـتى تختلف بإختلاف الخطوط الخليطة Crossed lines، وبالتالى تكون كل الأباء كاملة المعلوماتية.

٢- اليلن فقط ينعزلا عند إى موقع فى نظام خلط الخطوط الأصيلة Inbred-line Cross Design, بينما فى العشائر المتباعدة Outbred population يمكن أن ينعزل فيها اى عدد من الاليلات.

٣- تخـــتلف الأفـــراد فى العشائر المتباعدة Outbred population، فى طور إرتباط الماركر- كيوتى إل حيث ان الجاميطة التى تحمل الاليل M تكون مرتـبطة باليل Q للكيوتى إل فى جزء ما، بينما ترتبط بالاليل q فى جزء أخـــر. لذلـــك من الضرورى فحص كل أب منفصلا فى العشائر المتباعدة لوجـــود المصـــاحبة بيـــن الماركر والكيوتى إل. بينما فى خليط الخطوط الأصـــيلة F1 تكـــون الآبـــاء متطابقة الجينوتيب (حتى مشتملة فى طور الارتـــباط). لذلك يمكن اخذ متوسط الصفة المصاحبة للماركر لكل النسل بغض النظر عن أباء هذا النسل.

٤- ويكون الأب معلوماتيا للماركر إذا كان خليطا للماركر. كما يكون معلوماتيا للكوتـــى إل إذا كـــان خلـــيطا للكـــيوتى إل. وإذا لم يكن كلا من الماركر والكـــيوتى إل مـــتعدد الاليلية Polymorphoc تكون الآباء غير معلوماتية. وفـــى حالـــة وجـــود الرغبة لتغظيم جزء الآباء المعلوماتية للماركر، اقسام مواقـــع الماركرالـــتى تستخدم بنجاح مع الخطوط الاصيلة Inbred lines ممكـــن الا تكـــون المـــثلى للعشائر المتباعدة. على سبيل المثال: الماركر RFLP أستخدم فى الخطوط الأصيلة Inbred lines على نطاق واسع وهذا الماركر هو ماركر ذو اليلين اى له تعددية اليلية متواضعة. بينما ماركرز الساتليت هى ماركز عالية التعددية الاليلية وبالتالى تنتج أفراد ذو ماركرز عالى المعلوماتية.

الماركر والمسافات الوراثية بين العشائر :

عـــند دراسة التنوع الوراثي من المهم معرفة المسافات الوراثية بين عشائر الأنـــواع أو عشائر الأجناس. ويتم ذلك بحساب معامل التماثل بين الأنواع. فمثلا: لوكان عشيرتين X,Y لكل منهما عدد من المواقع r، ولكل موقع عدد من الاليلات m عند ئذ يمكن حساب:

١- تكرار الاليل i من الموقع j في العشيرة X أو العشيرة Y ويرمز لهذا التكرار X_{ij} , Y_{ij}.

٢- متوســـط إحـــتمال الالـــيلات المتمـــثلة لمواقـــع إختـــيرت عشوائيا للعشيرة X,Y.

٣-
$$I = J_{xy} / \sqrt{J_x J_y}$$

$$J_X = \sum_{j=1}^{r} \sum_{i=1}^{mi} X_{ij}^{2} / r$$

$$J_Y = \sum_{j=1}^{r} \sum_{i=1}^{mi} Y_{ij}^{2} / r$$

$$J_{XY} = \sum_{j=1}^{r} \sum_{i=1}^{mi} X_{ij} Y_{ij} / r$$

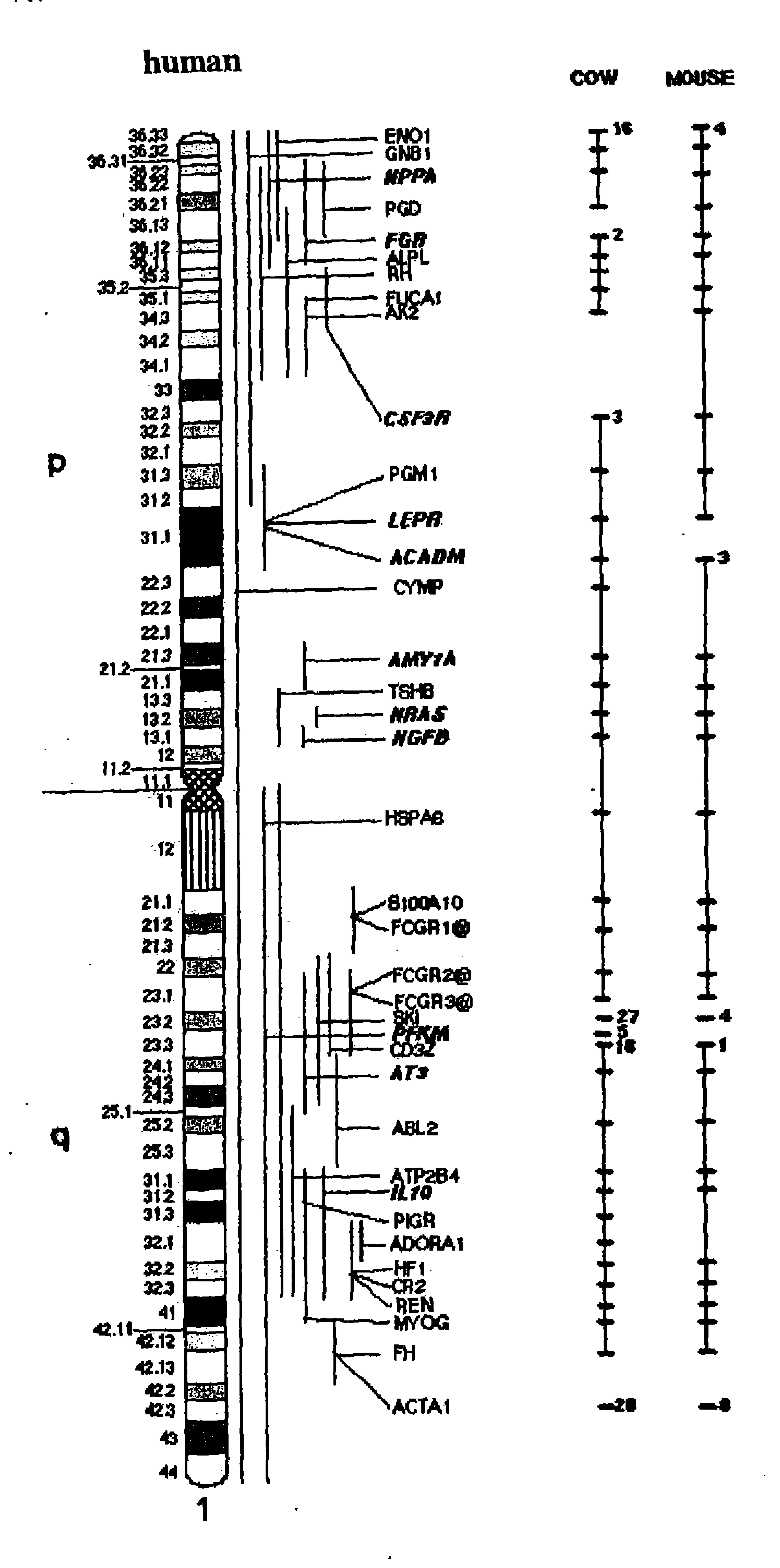
٤- حساب قيمة المسافات الوراثية بين العشائر D= -ln(I).

خرائط المقارنة Comparative Mapping :

تبنـــي خـــرائط المقارنة علي تماثلية الجينوم، وهى إستراتيجية تزيد من دور الماركـــرز في تحديد الأجناس وعلاقتها ببعضها بعضًا عند وجود معلومات غير كافـــية، أو عند صعوبة معلومات من الخرائط الوراثية. وتستخدم هذه الإستراتيجية للحصـــول علي معلومات من الأجناس التي توجد صعوبات عند دراستها كالإنسان مثلا، والأجناس التي من السهل دراستها مثل الفئران، فالمعلومات للجينوم البسيط يمكن تطبيقها وإستخدامها للجينوم المعقد من الشعير للقمح مثلا.

والرسم التالى يبين :

المـــناطق المـــتماثلة فـــى الكروموسوم فى الإنسان والكروسوم 28 فى البقر والكروموسوم 8 فى الفئران.


human
COW
MOUSE
p
q
1
ENO1
GNB1
NPPA
PGD
FGR
ALPL
RH
FUCA1
AK2
CSF3R
PGM1
LEPR
ACADM
CYMP
AMY1A
TSHB
NRAS
NGFB
HSPA6
S100A10
FCGR1@
FCGR2@
FCGR3@
SKI
PFKM
CD3Z
AT3
ABL2
ATP2B4
IL10
PIGR
ADORA1
HF1
CR2
REN
MYOG
FH
ACTA1

١٣

الباب الثالث عشر

الإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض

الباب الثالث عشر
الإنتخاب الوراثي للمقاومة للمرض

أولا: العقبات التي تواجه الانتخاب للمقاومة للمرض:

١- صعوبة تحديد القيمة المظهرية للمقاومة للمرض.
٢- صعوبة تحديد مدى المقاومة للمرض، بمعنى أنه في عشيرة من الحيوانات السليمة، والمريضة لا يمكن تحديد ما إذا كانت الحيوانات السليمة هي فعلا مقاومة للمرض. أن تكون تعرضت لمدة غير كافية للميكروب، وبدرجة تظهر المرض.
٣- الحيوانات التي تبدو سليمة يمكن أن تكون حاملة للمرض أو تكون معدية تحت إكلينيكيا Subclinical Infection.
٤- الأعراض المرضية التي تظهر على الحيوانات لمرض معين، لا يمكن تميزها عن أعراض أمراض أخرى، **فمثلا:** أعراض الالتهاب الرئوي لا يمكن تميزها عن أعراض التهاب الشعب الهوائية، أو عدوى الجهاز التنفسي.
٥- قد يكون مكلفا أو غير أخلاقي تعرض الحيوان السليم لميكروب المرض لتحديد مدى مقاومة الحيوان للمرض.
٦- انتخاب الحيوان للمقاومة لميكروب معين، يمكن أن يؤدى إلى أن يصبح الحيوان نفسه أكثر حساسية للإصابة بميكروب أخر.
٧- الاحتفاظ بالنظام الدفاعي في حالة إتزان Homestasis بدون ان يؤدى الى مناعة ذاتية يكون من الصعب تحقيقه.

ثانيا: متى يمكن إدخال المقاومة للمرض في برامج التربية:

١- يجب توفير تكاليف اقتصادية مرتفعة للمرض حتي يمكن الانتخاب للمقاومة للمرض. ويكون التحسين الوراثي اكثر فاعلية عند وجود مغامرة قليلة Low Risk للسيطرة على المرض.
٢- هناك تباين وراثي كافي للمقاومة للمرض Resistance to disease او تحمل المرض Tolerance to disease بين الأنواع المختلفة للحيوانات، وكذلك داخل النوع الواحد، مما يسمح بتحسين وراثي فعال. أو الفصل بين المقاومة للمرض Resistance to disease وتحمل المرض Tolerance to disease حيث أن التحسين الوراثي في العائل المقاوم للمرض، يكون التأثير على نقل العدوى،

بيـنما التأثـير عند الانتخاب لتحمل المرض يؤدى إلى تقليل أعراض المرض، ولكـن لا يقلـل من تأثير إنتقال العدوى للحيوانات الأخرى. وقد وجد أن هناك اكـثر مـن 50 مرضـا أظهـر مقاومة للعائل أو تحمله للمرض بين الأجناس المختلفة ومن أمثلة ذلك: مرض مارك فى الدواجن Marek's وعدوى F4,F18 لبكتريا E coli فى الخنازير، وعدوى النماتودا والتهاب الضرع فى الأبقار.

٣- يكون هناك قيمة إقتصادية ومنافع إجتماعية من إدخال المقاومة لمرض معين فمـثلا إمتـناع المسـتهلك عن منتج معين لوجود خطورة نتيجة لوجود بقايا المضـادات الحـيوية، أو صعوبة علاج مرض معين **مثل:** أنفلونزا الطيور، يكون الانتخاب بديلا مفضلا.

٤- إذا أصـبح اسـتخدام المضـادات الحيوية أو الأدوية الأخرى غير مجدى فى علاج الحيوان لوجود مقاومة للميكروب ضدها، هنا يصبح الانتخاب للمقاومة للمرض دور هام.

٥- الانـتخاب الوراثـى للمقاومـة للمرض يمكن ان يكون مفيدا عند عدم توافر الفاكسين أو الأدوية الأخرى. وكذلك عند عدم المقدرة على إستخدام الفاكسين، أو الأدوية الأخرى، كما فى حالة إنتاج اللحم.

٦- الانـتخاب يكـون مهما أيضا لعدد من الأمراض والتى فيها يصيب عدد من الميكروبات الحيوان بالطريقة نفسها.

ويكون الانتخاب غير مفضلا عندما يتسبب الانتخاب للمقاومة للمرض فى قلة الإنـتاج **مثل:** صفات النمو، والكفاءة التحويلية للغذاء **فمثلا:** الانتخاب لمعدل النمو فى الرومى يزيد من معدل الاصابة بالنيوكاسل.

والـتحدى الاكـبر عـند الانتخاب للمقاومة للمرض هو التحديد الدقيق للقيمة المظهـرية للمقاومـة للمـرض Phenotype of Disease Resistance أو إيجاد ماركرز يمكن الإعتماد عليه اى له قيمة تنبأ عالية للقيمة المظهرية للمرض **فمثلا:** بعـض الأمـراض لها مظاهر إكلينيكية وتحت إكلينيكية بينما أمراض أخرى تأخذ الأعراض الإكلينيكية فقط فى الاعتبار.

ومعـرفة طبـيعة عدوى المرض Mode of Disease Infection، وإستجابة الحيوان لها هى أساسية لمعرفة التعقيد فى الانتخاب لعدوى المرض حيث يجب ان يخـترق المـيكروب بدرجـة كافية لكل الموانع الدفاعية للحيوان، ويهاجم الخلايا، ويتكاثر فيها.

ثالثا: الموانع الدفاعية للمرض فى الجسم:

هناك ثلاثة موانع دفاعية فى الجسم ضد العدوى:

أ - المناعة الطبيعية هى خط الدفاع الأول وتتكون من الجلد، والشعر، واللعاب، وإفرازات الأنسجة المخاطية، والغدد مثل الدموع، والمعدو، واللعاب، وافرازات الجلد، والسلوك الشاذ **مثل:** اللعق، والدوران فى التراب، وإهتزاز الذيل. والميكروبات، أو الكائنات الدقيقة المفضلة والتى تعمل ضد الباثوجينات الضارة مباشرة أو غير مباشرة. وهناك أيضا جزء غذائى للمناعة الطبيعية **مثل:** فقدان الماء و نقص التغذية قد يقلل الإفرازات الطبيعية مما يجعل بعض الأنسجة أكثر حساسية للإصابة بالمرض، ونقص الفيتامينات، والمعادن تثبط الجهاز المناعى بالإضافة إلى مكون وراثي للمناعة الطبيعية **فمثلا:** وجد ان بعض الخنازير تكون مقاومة تماما للبكتريا المسببة للاسهال (E Coli) لنقص مستقبلات خلايا الأمعاء لالتصاق هذه البكتريا. كما وجد أن الذبابة الهجومية Fly Infestation للقطعان تتأثر بطول الشعر وطول الصوف وإفرازات الجلد.

ب- المناعة الذاتية والمناعة المكتسبة وهما يعتمدان على بعضهما، ويكونان شبكة من الخلايا والأنسجة والتى تتفاعلان مع بعضهما لتحديد البثوجينات ومهاجمتها، والانتجينات المصاحبة. والمناعة الذاتية أو الداخلية Innate Immune System تشتمل على:

١. كل الجهاز المناعى الذى ولد به الحيوان.
٢. الاستجابة الأولية بواسطة الجسم لازالة الميكروبات ومنع العدوى.
٣. خلايا الدم البيضاء(الخلايا الطبيعية القاتلة، ونيتروفيلز، والايزونوفيل والمونوسيتس والماكروفاج).
٤. البروتينات المكملة (C1-C4) والتى تكون ملاصقة للباثوجين.
٥. السيتوكينيز (أنترفيرون والكيموكينيز) والتى تجذب الخلايا المناعة إلى مكان العدوى. وتبحث المناعة الذاتية دائما عن الانتوجينات (البكترية، الفطرية، والفيروسية). وعند إكتشاف الانتوجين يمكن للخلايا المناعية مهاجمته.

ويلاحظ أن الجهاز المناعى الذاتى ليس له خاصية التخصص لباثوجين معين، وبالتالى ليس له ذاكرة للتعرض للإصابة السابقة، أو ذاكرة التعرض لباثوجين سابق. وقد سجلت فروق بين الأنواع فى المناعة الذاتية فمثلا إرتفاع النشاط التكاملي للدم Higher Haemollytic Complement Activity فى الأنواع الهندية Bos Indicus يكون مصاحبا للمقاومة العالية للقراد Tick Infesation

وبالــتالى لأمراض القراد Diseases Tick Borne وذلك مقارنة بالأنواع الأوربية Bos Taurus Breeds.

ج- المناعة المكتسبة Acquired Immune System :

هـــى تعــرض الــتى أكتسبها الحيوان بالتعرض للباثوجين أو الفاكسين سابقا وبالتالى، يمكن التعرف على باثوجينات أصيب بها الحيوان سابقا والمناعة المكتسبة تكــون خاصـــة بانتوجيـــن معين Antigen Specific. وهناك نوعان من المناعة المكتسبة. المناعة المكتسبة من الخلايا المناعية Cell-Mediated Immunity وهذه تتكون من الخلايا المناعية التى تهاجم الخلايا المصابة بالباثوجين مباشرة. والمناعة المكتســبة Humoral Immunity من الأجسام المضادة (أنواع محددة من البروتين المناعى) والتى توجه تجاه الباثوجين.

وتــتكون المناعة المكتسبة من نوعين من الخلايا المناعية T cells, B cells وهما خلايـــا بيضاء متخصصة. وتهاجم خلايا ال T الخلايا المصابة لباثوجين معين أما خلايـــا B فـــتطور إلى خلايا متخصصة منتجة لخلايا الأجسام المضادة. Specific Antibody Producing Cells. وتحدث المناعة المكتسبة بنوعين موجب وسالب Passive and Active والمـــناعة الســـالبة تنـــتقل مـــن الـــبقرة للعجل من خلال السرسوب والذى يحتوى على الأجسام المضادة. والمناعة السالبة فتعد مناعة مؤقتة فمثلا: مناعة العجل تعتمد لحد كبير علي المناعة السالبة. والتى تستمر لمدة بسيطة بعــد الـــولادة. ويحـــدث نقص فى مقدرة الأمعاء على إمتصاص الأجسام المضادة (الامينوجلوبيوليـــن)، كلمـــا تقـــدم موسم الحليب. ويوجد مكون وراثى فى المناعة الســـالبة فـــى الابقـــار فقد وجد دنا ماركرز DNA Markers مصاحبة للفشل فى المناعة السالبة. لذا فمن المهم ان يبدأ العجل المناعة الموجبة فى عمر مبكر لإنتاج خلايـــا مناعية Cell- Mediated Immunity، وأجسام مضادة إستجابة للانتجينات، والفاكسينات لتحل محل المناعة السالبة وإختفاء مناعة الام.

رابعا: الإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض :

من الأهمية بمكان فهم المناعة الذاتية والمكتسبة من المنظور الوراثى لتطوير بـــرامج الانـــتخاب للمقاومـــة للمرض ،على سبيل المثال: لو كان الهدف هو تقليل بكـــتريا الإســـهال فـــى العجول الصغيرة عندئذ يكون الانتخاب يشتمل على مقدرة وراثية للأمهات لإنتاج أجسام مضادة فى السرسوب (مناعة سالبة)، وكذلك عجول ذو مقـــدرة وراثـــية لـــتطوير مناعة ذاتية ومناعة مكتسبة فى عمر مبكرللباثوجين

المسبب لمرض الإسهال، ولكن قد يكون هناك بعض المشاكل لوجود إرتباط سالب بين مقاومة الام ومقاومة العجل، لبعض الامراض. وعموما الانتخاب للمقاومة للمرض مكلفا كما يسبب نقص فى الإنتاج وزيادة فى معدل الوفيات، ونقص فى طول مدة الحياة وزيادة فى التشخيص والعلاج..

الانتخاب المباشر للمقاومة للمرض:

تحدث المقاومة للمرض بثلاث طرق:

أ – ملاحظة الحيوانات فى بيئة معينة، أو نظام إنتاجي نقص الأعراض الإكلينيكية للمرض. وتحت هذا الاتجاه الانتخابى يمكن إفتراض أن الباثوجين المرضى دائما متواجد ولكن تعبير المقاومة للمرض يكون عرضة للسؤال. ويمكن تحديد الحيوانات التى تظهر عليها الأعراض الإكلينيكية بدقة منخفضة، ولكن ليس من الضروري ان تتعرض الحيوانات السليمة للباثوجين. وتحدث الأمراض عموما فى سنة أو وقت معين من السنة أو أثناء دورة إنتاجية معينة أو فى مكان معين (قطيع– المرعى– المزرعة – منطقة معينة) والجدير بالذكر أن السنوات التى يكون فيها معدل حدوث المرض مرتفعا تكون هناك درجة دقة عالية، ودرجة إحتمال عالية، فى تحديد الحيوانات المقاومة للمرض وقد تنخفض هذه الدقة أو تنتهى فى السنوات التى يكون معدل حدوث المرض منخفضا.

ب– التعرض المنظم لكل قطعان التربية للمرض، ويكون هذا الاتجاه بالطبع مكلفا، ويتوقف هذا على مدى قوة الباثوجين، ومدى ظهور الأعراض الإكلينيكية للمرض. وهذا الاتجاه يمكن اعتماده كمقياس للمقاومة للمرض. ولكن هذا يتطلب عزل العشيرة لمنع إنتقال المرض للقطعان غير المخصصة للتربية.

ج– تعرض الأقارب أو المستنسخات من قطعان التربية للمرض خصوصا اذا كان هذا المرض يتسبب فى معدل مرتفع من الوفيات، وهذا الاتجاه يمكن اعتماده لمعرفة مدى المقاومة الوراثية للمرض.

ويلاحظ انه ممكن أن يحدث خطأ فى تحديد الحيوانات المقاومة وراثيا للمرض لوجود خلفية مناعية سابقة (التعرض سابقا للباثوجين) ومختلفة بين الحيوانات. ويجب أن تحدد الأبحاث أهمية الخلفية المناعية فى حدوث التحيز فى ملاحظة استجابة الحيوانات للأمراض. فمثلا استخدام فى الماشية الانتخاب المباشر فى تقليل الإصابة لمرض البروسيلا. وقد وجد زيادة المقاومة الطبيعية لمرض

البروســيلا فى العجول الصغيرة من 20% إلى 59% بعد تلقيح الأبقار من طلوقة لهــا مقاومة طبيعية للمرض. ويستخدم الاتجاه المباشر للتجديد المظهري للحيوانات للمقاومة المرضية فى البيئة المعزولة والمحكمة.

الإنتخاب غير المباشر للمقاومة للمرض :

وهذا يحدث بالانتخاب لادلة للمقاومة للمرض وهذه الأدلة تشتمل على منتجات الباثوجيــن Pathogen Products (معــدل تكاثــر الباثوجين) ومخلفات الباثوجين، والاســتجابة المناعــية والبيولوجية للعائل للمرض. وهناك مثال واضح للانتخاب غــير المباشــر وهو: انتخاب الأغنام لعدد أقل من الطفيليات الداخلية اي عدد اقل للبــيض فــى الروث، ومقال آخر فى ماشية اللبن إستخدام عدد خلايا الدم البيضاء Somatic Cell Count كمعــيار انــتخابى لتقليل الاصابة بمرض التهاب الضرع. وقــياس الاســتجابة المناعية، يتم بتعريض الحيوان لانتوجين، أو فاكسين. وقياس كمــية الأجســام المضــادة أو قــياس كمية الإنتاج كان انتخابا فاعالا فى الدواجن والخــنازير. ويعتــبر مقــياس الاستجابة المناعية دليل مفيد للمقاومة للمرض فى الماشــية ويعــد هــذا دلــيل جــيد عندما يكون هناك مرض واحد تحت الدراسة. والانــتخاب للاســتجابة المناعــية قد يحسن المقاومة لمرض معين ولكن قد يزيد الحساســية لمــرض أخــر، وقــد أشارت إلى ذلك بعض الدراسات فى الخنازير. وللانــتخاب غــير المباشر الفعال يجب أن يكــون دليل الصفات له صبغة التوريث Heritable، ولــه إرتــباط وراثى مرتفع للمقاومة للمرض، كما أن المرض تحت الدراسة من السهل قياسه وتمويله.

الخريطة الوراثية :

ان معرفة تتابع الدنا DNA Sequencing فى جينوم من الفئران، و الإنسان، وبــناء خــرائط وراثية مماثلة فى القطعان. قد أدى الى اكتشاف جينات لها علاقة بالجهاز المناعي. ولقد اكتشفت معظم الجينات والتى لها علاقة بالمقاومة للأمراض باســتخدام سلالات الفئران المرباة تربية داخلية Inbred Strains of Mice. وجدت عــدد قليل من الجينات، لها علاقة بالمقاومة للأمراض فى الماشية. كما وجد الجين المســمى نــارب 1 (Narmp1)، أو جيــن المقاومــة الطبيعــية المرتبط ببروتين المكروفاج أن له علاقة بجهاز المناعة الذاتية. كما أن نارب 1 وجــد مرتبطا وله علاقــة بالمقاومــة لمــرض البروسيلا، والسل، والسلمونيلا ولقد تم تجديد النظير Homologues للــنارب 1 ومعــرفة تتابعه، وموقعه على الخريطة الوراثية. وتعد

والجيـــنات المرتـــبطة بالاستجابة المناعية الخاصة والمسماة Complex (MHC) Major Histocompatibility مـــن أوائل الجينات التى تم تحديدها تتابعيًا ووضعها على الخريطة الوراثية والتى لها علاقة بالأمراض.

وتعتـــبر جيـــنات MHC ذات درجة عالية من التعددية الاليلية اى لها درجة عالية من البلومورفيزم. بمعنى أن اكثر من اليل للجين الواحد يتواجد فى العشيرة، ولقد تم تحديد أكثر من 50 اليل من MHC. ودرجة البلومورفيزم العالية ل MHC والـــتى هى خاصة Unique بكل فرد (اكثر من 100 مليون توليفة محتملة) تشرح جزئـــيا كيف يمكن للجهاز المناعى ان يهاجم مثل هذا العدد الكبير من الانتيجينات، ويمكـــنه ايضا التمييز بين الانتوجين الغريب والانتوجين الذاتى الدخلى. ولقد وجد فـــى ماشية الحليب ان MHC للبقر مرتبطا بالمقاومة للمرض لصفات ذات أهمية اقتصـــادية مرتفعة. أما فى الدواجن وجد ان ال MHC مرتبطة بالمقاومة لمرض (مارك) وكذلك المقاومة (لكلوليرا) الدواجن.

وتـــم اكتشاف جينات فردية تؤثر فى المقاومة المرضية لقطعان الحيوانات مثل الجين المسمى فمبريا F4 (K88) فى الخنازير، والذى يقلل بكتريا الإسهال (E Coli) فى أمعاء الخنازير. وجين البريون بروتين (PrP) والذى له علاقة بالإصابة بالجرب فـــى الأغـــنام، والذى يسبب تساقط الصوف، (وهو مرض يصيب الجلد). وقد يسبب فقـــدان فـــى الجهـــاز العصبى وتدهور فى الجهاز العصبى المركزى. وكذلك الجين المسمى ب TNC والذى له علاقة بالإصابة بالسالمونيلا فى الدواجن.

مـــن الواضـــح ان الـــنظام المـــناعى معقد وان هناك عدد من الجينات تدخل فى المقاومـــة للأمراض، وان الخرائط الوراثية يمكن ان تؤدى الى ظهور كيوتى ال، أو مـــناطق معيـــنة على الكروموسوم ذات علاقة بالمقاومة للأمراض وقد وجد ان هناك منطقة على الكروموسوم رقم 1 مرتبطة بمرض العين البمبى Keratoconjunctivitis فى الماشية.

وقـــد تم تحديد عدد من الكيوتى إل والتى لها تأثيرات مختلفة على الأمراض فمثلاً. تم تحديد 14 كيوتى إل مرتبطة بمؤشرات مختلفة للمقاومة لمرض مارك فى الدواجـــن Mark's disease وهو مرض يصيب الجهاز الليمفاوى فى الدواجن وقد يصـــيب أيضًـــا الجهاز العصبى ويؤدى إلى الشلل. وهناك 16 كيوتى إل مرتبطة بمؤشـــرات مخـــتلفة للـــتحمل لمرض التريبانوسوموسيس Trypanosomosis فى الخلـــيط بين ماشية إن داما N' Dama وماشية البوران Boran cattle ومن ثم نجد

عــدد من الكيوتى إل لها تأثيرًا مختلفًا على انتقال العدوى ويبقى السؤال الهام وهو أى من الكيوتى إل أكثر فاعلية فى المساعدة للتعامل مع المقاومة للمرض؟

والإجابــة العامة هى الكيوتى إل التى تقلل من تأثير المرض بتقليل الحساسية للعــدوى هــى الكيوتى إل الأنسب استعمالا ويبقى القرار على أى من الجينات أو الكيوتى إل تكون ملائمة للبحث أو الانتفاع بها والذى يكون من خلال المنظور لكل مرض على حده.

والســؤال الذى يطرح نفسه ما مدى الفائدة من التحسين للمقاومة للمرض، علمًا بأن تحسين المقاومة للمرض يختلف عن التحسين للإنتاج؟ فمن الشائع أن الحيوانات يمكن ان تعدى بعضها بعضا، وبالتالى نجد ان المقاومة للمرض فى حــيوان معين ليست مستقلة عن المقاومة للمرض فى حيوان أخر، ولكن يمكن أن نجــد ان الإنتاج فى حيوان معين يكون مستقلا عن الإنتاج فى حيوان آخر خصوصا إذا لم يكن هناك صلة قرابة.

تحديد النوع الأكثر مقاومة للمرض والاستفادة منه فى برامج التربية:

لــو كـــان هــناك نوعان من الحيوانات مربا فى بيئة معينة كيف يمكن تحديد الــنوع الأكثر مقاومة؟ أو كيف يمكن إختبار النظرية الفرضية ان النوعيين يحملا ميكانيزم مختلف للمقاومة الوراثية لمرض معين؟

هناك خطوات يجب اتباعها للإجابة عن هذا التساؤل:

أولا: يجرى مسح وراثى لمتسع العشيرة Genome-Wide QTL Interval Mapping لــتحديد الكــيوتى إل بإســتخدام خــريطة المسافات، مثلا مع إستخدام عديد من الماركـــرز الوراثــية فـــى جيل F2 أو جيل التلقيح الرجعى Backcrosses بين النوعييــن ، حيــث ان معلومـــات الماركرز تزودنا بأسهل الطرق لتقدير التنوع الوراثـــى داخـــل وبيـــن اى مجموعـــة مـــن الأنواع (ومن امثلة ذلك الاحتمال للتريبانوسوموسيس Trypanosomosis tolerance. الحيوانات فكلما أمكن التمييز الوراثـــى بيـــن عشـــيرتى النوعيين فى قطعان الحيوانات كلما زاد إحتمال وجود تعدديـــة اليلـــية تميز بين النوعيين Distinct genetic polymorphism، وامكن للانتخاب ان يثبت جينات خاصة بالمقاومة المرضية فى عشيرة معينة.

ثانـــيا: مـــع تحديد موقع الكيوتى إل وحجمها، يجرى فى الوقت نفسه تسجيل للقيم المظهرية اى:

أ - تحديـد مظهر الأنواع النقية Performance of purebreeds أو تحديد القيمة المظهرية لصفة المقاومة لمرض معين.

ب- تحديـد مظهر افراد جيل ال F2 الناتج عن خلط النوعيين الأصيلين، او تحديد مظهر افراد الخلط الرجعى Backcross.

ثالـثا: الاستفادة من أحد الأنواع الأصيلة الأكثر مقاومة للمرض فى برامج للخلط أو تكويـن نوع جديد من خلال الانتخاب من الجيل F2، أو من الانتخاب من جـيل عشـيرة الخلط الرجعى Backcross Population او إدخال كيوتى إل QTL من نوع اكثر مقاومة لنوع اخر.

رابعـا: يجب التأكد من ان برنامج التحسين الوراثي يمكنه إدخال ما يسمى ماركر قـاعدى للإنـتخاب Marker-based selection اي ان هذا البرنامج لا يعتمد فقـط علـى قيمة الماركر فى تحديد الكيوتى إل ولكن على تكاليف والإمكانية اللوجستية فى إستخدام الماركر فى برنامج التحسين الوراثى.

دور الماركر فى دراسة المقاومة المرضية وتحسين الانتاج :

مـن المعـروف ان الحيوانات التى لاتمتلك مقاومة تامة لمرض معين يظهر علـيها نقص إنتاجي عند إصابتها بهذا المرض، ووجود مستوى عدوى مرتفع مع وجـود مستوى منخفض من المقاومة للمرض مما ينتج عن ذلك نقص فى الإنتاج. وعـندما يكون مستوى المقاومة مرتفع، لا يظهر تأثير العدوى على الإنتاج، وعند وجود مستوى عدوى ثابت، ومستوى مقاومة ثابت Constant Infection Preasure، يتسـبب الانـتخاب فـى زيادة المقدرة الإنتاجية (الإنتاج الذى يحدث فى غياب العدوى)، وزيادة مستوى المقاومة كذلك والمثال على ذلك هو ترابيونوسوموزيس Trypansomosis. ان الماشـية المحلية المقاومة لمرض الترايبونوسوموزيس قد تحسـن إنـتاجها ومقاومـتها نتـيجة للانتخاب. ويتطلب قياس القيمة المظهرية الإنتاجـية تعـرض الحيوان للباثوجين، والبديل لذلك هوتربية الحيوان تحت بيئة غـير معدية (أو تحت علاج)، ودمج المقدرة الانتاجية مع وجود QTL كيوتىإل للمقاومة المرضية، والتنبأ بالإنتاج مع وجود معدل ثابت من العدوى. وفى الواقع نجـد ان معدل الإصابة ليس ثابتا بل يتغير مع الوقت وينتج بالتالى تأثير انتخابي مـتقطع للمقاومة المرضية عند تطبيق الانتخاب الفردي على الإنتاج الملاحظ، واسـتخدام الكـيوتى إل يساعد فى الانتخاب للمقاومة المرضية بغض النظر عن وجود العدوى من عدمه.

ويمكـــن إيجاد العلاقة بين مستوى المقاومة للمرض Resistance(R) والإنتاج الملاحـــظ Observed Production (P_0) فی وجود العدوی . والمستوى الإنتاجي الـــذی يمكـــن تحقـــيقه لوكـــان الحيوان لديه مقاومة تامة يسمى المقدرة الإنتاجية Potential Production ويرمز له بالرمز P_P. وفی وجود العدوی المرضية يكون الإنـــتاج الملاحظ (P_0) هو دالة فی كل من المقدرة الإنتاجية، والمقاومة $P_0 = f(R)^*$ P_P، حيـــث ان f(R) هی دالة فی المقاومة والتی تصف تأثير المقاومة على الإنتاج الملاحظ ويمكن هنا ان نميز بين ثلاثة أقسام من المقاومة والتی يكون الفصل بينها بـــنقاط حدية . فی القسم الأول تكون الحيوانات حساسة للمرض Susceptible عند إنخفـــاض مســـتوى المقاومة للمرض عن أقل نقطة حدية Lower Threshold(L) وفي هذه الحالة يتوقف الإنتاج عند Po = ٠ .

وفـــی القسم الثانی تكون الحيوانات مقاومة تماما للمرض عندما يكون مستوى المقاومـــة للمـــرض فـــوق أعلی نقطة حدية Upper Threshold(U) عندئذ يكون الإنـــتاج الملاحـــظ مساويا للمقدرة الإنتاجيـــة Potential Production أو مساويا الإنتاج عند أقصی مقاومة أی $P_0 = P_P$.

وفـــی القســـم الثالـــث تكـــون الحيوانات ذات مقاومة جزئية للمرض أي تقع الحـــيوانات بيـــن النقطتين الحديتين L, U ويصبح الإنتاج الملاحظ أقل من المقدرة الإنتاجية أو الإنتاج عند أقصی مقاومة. ويعتمد حجم النقص فی الإنتاج خطيا على مستوى المقاومة عندئذ يصبح تأثير المقاومة على مستوى الإنتاج الملاحظ كالآتي:

$$f(R)=0 \quad \text{for } R<L$$
$$f(R)=(R-L)/(U-L) \quad \text{for } L<R<U$$
$$f(R)=1 \quad \text{for } R>U$$

R = مستوى المقاومة للمرض
L = أقل نقطة حدية
U = أعلی نقطة حدية
f (R) = دالة فی المقاومة للمرض

وبفـــرض ان القيم الحدية محددة Fixed Threshold وقيمتها تعتمد على نوع العـــدوی، والعوامـــل البيئية الأخری يمكن فرض ان المقاومة، والمقدرة الإنتاجية تـــتوزع طبيعـــيا وانـــه لايوجـــد ارتباط بين المقدرة الإنتاجية والمقاومة وان قيمة المقاومة دائما موجبة.

إستراتيجيات الانتخاب للمقاومة المرضية :

هناك استراتيجيتان للانتخاب للمقاومة المرضية :

الاستراتيجية الأولى: تتم بناءً على القيمة المظهرية للإنتاج الملاحظ تحت ظروف العدوى.

الاستراتيجية الثانية تتم بناءً على وجود QTL للمقاومة للمرض والمعلومات المظهرية للمقدرة الإنتاجية تحت ظروف عدم وجود عدوى.

الانتخاب الفردى Mass Selection تحت ظروف العدوى الثابتة وفى هذه الحالة يتم ترتيب الحيوانات طبقا للقيمة المظهرية للإنتاج الملاحظ تحت ظروف معدية والذى بعدها يتم إجراء القطع الانتخابى Truncation Selection. وعند معاملة الحيوانات بالأدوية من المفروض ان العلاج يكون قد تم بعد تسجيل الإنتاج الملاحظ. وتستخدم نتائج الانتخاب الفردى تحت ظروف العدوى الثابتة كمرجع للمقارنة بين النتائج المستخلصة من طرق الانتخاب الاخرى تحت ظروف العدوى المتقطعة.

الانتخاب باستخدام الكيوتى إل QTL Selection :

فى غياب العدوى، معلومات القيمة المظهرية على الإنتاج غير موجودة، وفى مثل هذه الحالة يتم الانتخاب بناءً على القيمة التربوية للإنتاج الملاحظ والذى يُقدر باستخدام معلومات الكيوتى ال عن المقاومة المرضية ومعلومات القيمة المظهرية للمقدرة الإنتاجية. وبفرض ان عدد الكيوتى إل للمقاومة المرضية قد تم تحديده والذى يشرح الجزء من التباين الوراثى التجمعى الكلى موزعا توزيعا طبيعيا وبفرض ان المتوسط للكيوتى إل هو μ_{QTL} والمعامل الوراثى للكيوتى إل هو $h^2_{QTL} = ١$ لانه من المفروض ان تكون الكيوتى إل محددة ومعروفة بدون خطأ. ويصبح الجزء من التباين الذى يشرح بواسطة الكيوتى إل ثابتا مع الزمن (وبفرض ان تثبيت الكيوتى إل الذى يعزى للانتخاب يمكن تعويضه كليا بتحديد كيوتى إل جديدة خلال التجربة). وتقدير القيمة التربوية للفرد هو ضعف القيمة المظهرية للنسل مقاسا كانحراف من متوسط العشيرة.

وباستخدام النموذج الخليط Mixed Model هذا التعريف يساوى القيمة الوراثية التجمعية للفرد نفسه مقاسا كانحراف من متوسط العشيرة. وفى وجود النموذج غير الخطى Non Linear يتوقع أن مظهر النسل يعتمد على كل من القيمة الوراثية للآباء وتباين مظهر النسل حول المتوسط. على سبيل المثال عندما تكون

القيمة المتوسطة للآباء للمقاومة للمرض فوق أعلى قيمة حدية Upper Threshold ، تظـل القـيمة المظهـرية للمقاومة للنسل اسفل أعلى قيمة حدية Below upper Threshold مما يعزى الى التأثير المندلى Mendelian Sampling وكذلك التباين فـي المقاومـة، والـذى يقلل من القيمة الملاحظة للإنتاج فى النسل. كذلك نجد ان القيمة التربوية المقدرة للإنتاج الملاحظ Observed Production لايمكن ان تعتمد علـى القيمة الوراثية للآباء. ولكن القيمة المتوقعة للإنتاج للنسل يجب ان يتنبأ لها لان الهـدف من التربية هو تحسين القيمة المظهرية الإنتاجية فى ظروف العدوي، وان مظهـر النسـل سوف يتنبا له فى ظروف العدوى المرضية والقيمة الملاحظة لإنـتاج النسل يتنبأ لها من متوسط الآباء وتباين مظهر النسل حول المتوسط، وعند معـرفة القـيمة الـتربوية المقدرة للمقاومة للآباء تصبح القيمة المظهرية للمقاومة للنسل موزعة طبيعيا بمتوسط.

$$1/2ebv_P + 1/2\overline{ebv_M}$$

وتباين $\sigma^2_{PR} - 1/4\,P_M\sigma^2_{AR}$ حيث ان R_O

$$R_O \sim N(1/2ebv_P + 1/2\overline{ebv_M}, \sigma^2_{PR} - 1/4\,P_M\sigma^2_{AR})$$

ebv_p تمـثل القـيمة الـتربوية لمقدرة الأب للمقاومة، $\overline{ebv_M}$ تمثل متوسط الزيجات . التباين المظهرى لمقاومة النسل معطا الأب (أى انتخاب الأب بناءً على الكيوتى أل للمقاومة للمرض) يشرح الكمية $1/4\,P_M\sigma^2_{AR}$ من التباين المظهرى للنسل.

وان مـربع معـامل الارتـباط بين تأثير الكيوتىال والقيمة التربوية لمقاومة المرض P_m= القيمة المظهرية للمقاومة للنسل Ro= وبناءً على متوسط وتباين Ro نسـبة ال P_L مـن النسل سوف تكون لها قيمة أقل من القيمة الحدية السفلى بينما النسـبة P_U، سوف يكون لها قيمة أكبر من أعلى قيمة حدية Upper Threshold، وان النسبة P_B تقع بين القيمتين الحديتين وتصبح قيمة

$$P_L = \phi\left(\frac{L - 1/2ebv_P - 1/2\overline{ebv_M}}{\sqrt{(\sigma^2_{PR} - 1/4P^2\sigma^2_{AR})}}\right)$$

$$P_U = 1-\phi\left(\frac{U-1/2ebv_P-1/2\overline{ebv_M}}{\sqrt{(\overset{2}{\sigma}_{PR}-1/4P^2\overset{2}{\sigma}_{AR})}}\right)$$

تمثل النسبة الدنيا (الجزء من الذيل السفلى) من المحنى الطبيعى القياسى

$P_B = 1-P_L-P_u$

ويمكن ان يكون واحد او اثنين من القيم P_u , P_B, P_L مساويا صفرا.

ومعـــرفة توزيع المقاومة للمرض فى النسل يمكن منه التنبأ بالقيمة الإنتاجية للنســـل بإعطاء نسبة من الوزن المناسب للإنتاج الملاحظ فى كل جزء من التوزيع لقيمة المقاومة للنسل Ro

و قيمة $Po=0$ للجزء $R<L$

وقيمة $Po=Pp$ للجزء $R>U$

وتصـــبح قـــيمة الإنـــتاج المـــتوقعة للنســـل $SCPo=P_B*P_{oB}+P_U*P_p$

حيث $P_{oB}=((\mu_{RM}-L)/(u-L))*P_{po}$

وهى القيمة المتوقعة للإنتاج للنسل عندما $L<R<U$

$Ppo=1/2\ Pp\ sire+1/2Pp\ mate$

وهـــى القيمة المتوقعة للمقدرة الإنتاجية للنسل Expected potential production of offspring.

والقـــيمة المظهـــرية المتوقعة لمقاومة النسل فى حالة ان $L<R<U$ يمكن حسابه من

$\mu_{RB}=(\mu_{Ro}-Pu*\mu_{Ru}-PL*\mu_{RL})/P_B$

حيـــث $\mu_{Ru}=\mu_{Ro}+i_\mu\,\sigma_{PRO}$ هـــى القيمة المتوقعة للمقاومة للنسل عندما $R>U$، $\mu_{RL}=\mu_{RO}-i_L*\sigma_{PRO}$ هى القيمة المتوقعة للمقاومة للنسل عندما $R<L$.

وان i_L, i_U هـــى العمق الانتخابي المناظر لقيمة P_U, P_L. وعموما تنتخب الحيوانات بناءا على القيمة المتنبأ للإنتاج الملاحظ للنسل SCPo.

وفـــى إحـــدى الدراسات باستخدام النموذج الثابت على بيانات أو جدت بواسطة نظـــام المحاكاة Simulation ل 50 جيلا. قوم استخدام الكيوتى إل للمقاومة المرضية عـــند الانتخاب لزيادة الإنتاج، وفى وجود العدوى المرضية وقورن ذلك مع الانتخاب

الفردى فى وجود العدوى المستمرة، والعدوى المتقطعة للحيوانات وأشارت النتائج ان الإنـــتخاب للإنتاج المتنبأ وباستخدام الماركرز الوراثية المرتبطة بالكيوتى إل (كيوتى إل مـــتعددة ولها علاقة بالمقاومة المرضية) أثرت على المقاومة ويمكنها (الإنتاج المتنبأ باســتخدام الماركـــرز) ان تكـــون بديلا للانتخاب الفردى Mass Selection لزيادة الانـــتاج والمقاومة المرضية معا Production and Resistance Simultaneously ومع استخدام نموذج Marker Assisted Selection MAS أصبح ليس ضروريا مـــنع الحـــيوان من الفاكسين اومنعه من العلاج بالادوية بعد العدوى حتى يمكن أخذ القياســـات الانتاجـــية او حتى الاحتفاظ بالحيوانات فى بيئة مصابة بالعدوى. وعموما يـــزداد مســـتوى المقاومـــة للمرض باستخدام الكيوتىإل عنها فى الانتخاب الفردى للإنتاج. وان التحسين الوراثى فى الإنتاج كان مقاربا أومتفوقا على الانتخاب الفردى عـــندما كـــان العمـــق الوراثى Heritability للمقاومة المرضية منخفضا. ولوكان الانتخاب متقطعا Intermittentعندئذ يصبح الانتخاب الفردى لتحسين الإنتاج تحت ظـــروف العـــدوى الثابتة أقل فاعلية. ووجود الكيوتى إل للمقاومة لا يؤثر فقط على مـــدى مقاومـــة الحـــيوان المرضية ولكن يؤثر أيضا على مدى تاقلم Adaptability الحـــيوان مـــع البيئة التى حدث فيها تحديد الكيوتى إل. وفى البيئة التى تكون العدوى فيها غائبة، أو عوامل العدوى غير ثابتة تختلف المقاومة للحيوان عنها فى البيئة التى تكـــون العـــدوى فـــيها موجودة، لذلك من المهم ان تحدد الكيوتى إل على الخريطة الوراثية فى البيئة نفسها التى ينتخب فيها الحيوان.

والانـــتخاب الناجح للقيمة الإنتاجية يتطلب معرفة كيوتى إل متعددة.وتنخفض الدقـــة فـــى الانتخاب، كلما زادت المسافة بين الكيوتى إل والماركر الوراثى (اى زيـــادة معـــدل التوافـــيق الوراثية)، والذى يؤدى إلى نقص وجود الكيوتى إل فى العشـــيرة وقـــد وجدأن تثبيت Fixation أو تحديد Detection الكيوتىإل يعادل كل منهما الآخر balance each other out ولكن وجود عدد كاف من الكيوتى إل يبقى عـــاملاً هامًـــا لـــيعطى توزيعا طبيعيا. وان برنامج (م ا س) Marker Assisted Selection يـــؤدى الى تثبيت Fixation الكيوتى إل وبالتالى الى نقص كبير فى التباين الذى يعزى للكيوتى إل.

ولكـــن عند إفتراض وجود تداخل Interaction بسيط بين أثنين من الكيوتى إل نجـــد ان تغـــير بســـيط يحـــدث فـــى الخلفية الوراثية (بتثبيت الكيوتى إل من خلال الانتخاب) يمكن ان يكون له تاثير كبير على تعبير الكيوتى إل الجديدة. ووجد انه يتم إكتشـــاف، وتحديـــد كـــيوتىإل جديـــدة بإنتظام، وانه من المهم الاستمرار فى تحديد

كيوتىإل جديدة، لان الكيوتى إل الجديدة تظهر لوجود تغيير فى التعبير خلال عملية الانتخاب.

والكيوتى إل التى تكتشف مبكرا هى الأهم فى عملية الانتخاب، لان تأثير الانتخاب على تأثير الكيوتى إل للمقاومة يتناقص مع زيادة مستوى المقاومة، وعندما تقترب المقاومة الى أعلى نقطة حدية تكون الزيادة فى معدل المقاومة نتيجة الانتخاب ليس ذو أهمية. وان الكيوتى إل ذات التأثير الكبير عددها قليل ويتم إكتشافها مبكرا وان هناك عددًا كبيرًا منها له تأثير صغير وان الكيوتى إل التى تكتشف مؤخرا سوف يكون لها تأثير صغير على صفة المقاومة للمرض، لان الانتخاب فى العشيرة يكون موجها اكثر للإنتاج وليس للمقاومة، والتغير فى التباين لثبات الكيوتى إل ذات التأثير الكبير ممكن ان يحدث ويكون اقل تأثيرا عند تطبيق النموذج الحدى Threshold Model بدلا من تطبيق النموذج الخطى Linear Model.

وعندما تكون المقاومة منخفضة (فى الأجيال الأولى) يؤدى الانتخاب للإنتاج الملاحظ إلى زيادة المقاومة بدلا من الزيادة فى المقدرة الإنتاجية، وبزيادة مستوى المقاومة يؤدى الانتخاب للإنتاج الملاحظ إلى زيادة فى كل من المقاومة والمقدرة الإنتاجية. ومجرد ان تصل المقاومة فوق أعلى قيمة حدية يصبح الانتخاب على الإنتاج الملاحظ مساويا للمقدرة الإنتاجية.

المقاومة لمرض التهاب الضرع Marker and Genetic Resistance to Mastitis:

تم دراسة العلاقة بين الماركر المصاحبة للمناعة لمرض التهاب الضرع، وعلاقة ذلك بالقيمة التربوية المتوقعة لمقاييس مرض التهاب الضرع فى أبقار الهولستين فريزيان ، وكانت مقاييس مرض التهاب الضرع هى عدد خلايا الدم البيضاء Somatic Cell Count (SCC)، الالتهاب السريرى Clinical (CM) Mastitis، العدوى الداخلية Intramammary Infection (IMI) فى وجود ميكروب رئيسى Major، وميكروب ثانوى Minor، وكانت الاليلات هى:

١- اليلات المطابقة النسيجية الرئيسة للبقر Bovine Major Histocompatability وهى اليلات الجين DRB3.2وعددها إحدى عشرة اليلا.

٢- اليلات جين المناعة IgG2 وهما $IgG2^a$,$IgG2^b$ وهناك ثلاثة تراكيب وراثية لجين المناعة هى:

AA($IgG2^a$/$IgG2^a$), AB($IgG2^a$/$IgG2^b$), BB($IgG2^b$/$IgG2^b$)

٣- الـيلات نقـص الليكوسيت Bovine Leukocyte Adhsion Defficiency (BLAD) وهو الجين CD18 والطفرة له هى D128G.

النموذج الاحصائى:

$$D_i = MHC_i + IgG2_i + BLAD_i + \varepsilon_i$$

حيـث D_i تمـثل القـيمة التربوية المتوقعة للبقرة i لكل من لكل من SCC, IMI major CM,IMI minor المتغير MHC_i يمثل مجموع تاثير استبدال الجين للاليل m فى الجين DRB3.2 مضروبا فى عدد النسخ (n = 0, 1, 2) للبقرة i.

المتغـير $IgG2_i$، والمتغير $BLAD_i$ يمكن تعريفهما بنفس بالطريقة نفسها السابقة. وتأثـير استبدال الجين هو الفرق بين متوسط الاليلات فى كل موقع. وقد وجد ان هناك مصاحبة بين وجود الاليل DRB3.2*16 وارتفاع القيمة التربوية المتوقعة EBV لصفة عـدد خـلايا البيضاء SCC. وان المصاحبة بين كلا من DRB3.2*16, DRB3.2*8 وCM دلالـة الـدم علـى الحساسية للإصابة بالمرض. وكان DRB3.2*11 مصاحبا لـنقص القـيمة الـتربوية المتوقعة EBV للالتهاب السريرى لمرض التهاب الضرع Clinical Mastitis بيـنما كـان ارتفاع DRB3.2*8 مصاحبا لزيادة EBV للالتهاب السريرى (CM). وان هناك تأثير معنوى للاليلات DRB3.2*24، DRB3.2*3 على العدوى الداخلية Intramammary Infection.

ووجـد أيضا أن $IgG2^a$ له تأثير معنـوى لخفض القيمـة التربوية للالتهاب السريرى CM وان حامل الطفرة للاليل CD 18 له تأثير معنـوى للقيمة التربوية المنخفضة للالتهاب السريري CM.

والحيوان الذى له قيمة مفضلة لعدد خلايا الم البيضاء (قيمة منخفضة لل SCC) لـه الخلايا المناعية المتعادلة نتروفيلز Neutrophils بوظائف عالية (قيمة تربوية عالـية) وعدد اكبر من الخلايا المناعية الوحيدة momocytes وقد وجد ان الماركرز يكون ٤٠% من التباين الوراثى لمرض التهاب الضرع.

١٤

الباب الرابع عشر

برامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س)

الباب الرابع عشر

برامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س)

Markers Assisted Selection (M A S)

المقصـــود بـــبرامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س) هى كل الدراسات والـــبرامج الـــتى يســـتخدم فيها الماركرز كأداة مساعدة فى تقييم الحيوانات وتقدير القـــيمة الـــتربوية، وزيادة الدقة لتسهيل عمليات الانتخاب لتحقيق التحسين الوراثى المنشود.

أنواع الماركرز المستخدمة فى برامج الماركر المساعدة للانتخاب :

١- Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP):

ويعـــتمد هذا الماركر على إستخدام إنزيمات التقطيع Restriction Enzymes لتقطـــيع الدنا DNA فى مواضع معينة وتنتج التعددية الاليلية polymorphism من حذف أو أزدواج Duplication قطعة معينة من الدنا أو نتيجة لحدوث طفرة عند، مكـــان التقطيع. RFLP ماركر هو أساس الأبحاث الأولى ولكنه يتطلب كمية كبيرة من الدنا large amount of DNA وبالتالى يكون هذا النوع من الماركر مكلفا فى برامج المسح الوراثى.

٢- Random amplification of polymorphism DNA (RAPD):

وهـــذا الماركـــر يكـــون مكلفا أيضًا فى برامج المسح الوراثى الكبيرة وينتفع بالـــتحديد المـــنخفض لـــلPCR اى ينتفع باستخدام كمية قليلة من الدنا أو باستخدام برايمرز أحادية لتتابع إفتراضى من الدنا لإنتاج سلسلة من الدنا أوصف من سلسلة من أجزاء مجهولة من الدنا وبالتالى يتطلب هذا الماركر كمية بسيطة من عينة الدنا لتحليل عدد كبير من المواقع البلومورفوزمية.

٣- Amplified Restriction Fragment Length (AFLP):

يتطلـــب هـــذا الماركـــر هضـــم وتقطـــيـــع دنا بإستخـــدام إنزيمات التقطيع Restriction Enzymes، ثم إستخدام ال PCR وعدد من النيكلوتيدات المختارة فى برايمرز معين، وذلك لإنتاج عدد كبير من أجزاء محددة من الدنا، وفى هذه الطريقة يمكـــن قـــياس عـــدد من المواقع يصل لغاية 100 موقع بلومورفوزيمى، وبالتالى يتطلب هذا كمية بسيطة من الدنا لكل إختبار.

٤- Single Sequence Repeat (SSR):

وبنى هذا الماركر على تحليل الميكروستاليت (تكرار مصغر) لاجزاء صغيرة مكررة التتابع للدنا Short Reoeat، وهذا ينتشر إنتشارا واسعا فى جينوم الحيوانات المتعددة الخلايا Eukaryotes، وذلك لتحديد التباين فى التتابع البسيط للمكرارات، وبذلك يتطلب هذا التحليل قطع صغيرة من الدنا ويتميز بقلة التكلفة لكل تحليل.

٥- Single Nucleotide Polmorphisms (SNP):

ويكتشف هذا الماركر باستخدام ال PCR، وهذا الاختبار يلقط بكفاءة نقطة الطفرة (مكان الطفرة)، وتتطلب هذه الطريقة كمية بسيطة من الدنا لكل عينة، وبالتالى تكون التكلفة بسيطة لكل عينة.

خطوات تنفيذ برامج الماركرز المساعدة للانتخاب (م ا س). Markers Assisted Selection (M A S) ويتم تنفيذه في أربع خطوات أساسية هى:

- د- البحث عن ماركرز وراثية.
- د- عمل خريطة ارتباط وراثية.
- د- إيجاد العلاقة بين الماركرز والكيوتى إل.
- د- استخدام الماركرز فى برامج الانتخاب.

يتم البحث عن الماركرز باستخدام الاختبارات الوراثية مثل اختبارات RFLP, AFLP, RAPD, PCR وتعتمد هذه الاختبارات تكنيكيا على اتجاهين هما الهيبردة Hybridization والامفلنكة Amplification وفى نهاية هذه الاختبارات نحصل على عدد من نسخ الدانا (DNA) لها تتابع قاعدى مطابقا للجزء المطلوب تخليقه من الدنا Target Sequence of DNA.

يتم عمل الخريطة الوراثية باستخدام تحليل الارتباط الوراثي Genetic Linkage Analysis حيث يتم ذلك فى الخطوات التالية:

أ - تحديد معدل التوافيق الوراثية (ر) بين كل زوج من مواقع الماركرز وبالتالي بمكن. تحديد المسافات(م) على الخريطة الوراثية في كل اثنين من الماركرز وتستخدم طريقة الحدبة العظمى Maximum Likelihood أو طرائق إحصائية أخرى لتقدير قيمة (ر) بمعرفة تكرار التراكيب الوراثية.

د- تقسيم الماركرز فى مجموعات وراثية Linkage Grouping.

د- ترتيـــب الماركرز داخل كل مجموعة على الخريطة الوراثية وبذلك أمكن تحديد الترتيب النسبي للماركرز.

د- تقدير معدل التوافيق الوراثية للنقاط المتعددة بين المواقع المتجاورة.

الارتـــباط بين الماركرز وال كيوتى ال، يتم باستخدام المسح الوراثي للجينوم Genome Scanning بعد تحديد المسافة بين الماركرز على طول الجينوم. ويجب تحديـــد عـــدد ال كـــيوتى ال الواجب أخذها على الجينوم، والتى سوف تستخدم في (م ا س) وبذلـــك ســـوف يحـــدد الجـــزء من التباين الوراثي الذى يرجع إلى عدد ال كـــيوتى ال المكتشـــفة، وهـــذا عامل هام في تحديد الدقة في استخدام (م ا س) ويتحدد عدد كيوتى ال بثلاث عوامل:

١- تأثـــير الكيوتـــي إل: فقـــد وجد أن 60% من التباين في الكيوتي إل يمكن ان يعزى الي تأثير 5% من الكيوتي إل ذات التأثير كبير الحجم.

٢- قوة التجارب الوراثية ودقتها Power of Mapping Experiment.

٣- مســتوي القـــوة في الإختبار الإحصائي والذي يستخدم لمعرفة القيمة الحدية Significance of Threshold والتي فوقها يمكن تحديد وجود الكيوتي إل من عدمـــه. حيـــث ان انخفاض القيمة الحدية المعنوية يعنى زيادة عدد الكيوتي إل التي يمكن تحديدها والتي من بينها عدد غير حقيقي من الكيوتى إل وهذا يقلل الدقة فى (م ا س). وارتفاع القيمة الحدية يعني قلة عدد الكيوتي إل التي يمكن تحديدها.

نتائج هامة للاستجابة للانتخاب باستخدام الماركرز:

١- بـــرامج الماركر المساعدة للانتخاب (م ا س) يمكن ان تستعمل لزيادة معدل التحســـين الوراثـــي وزيادة درجة الدقة في الانتخاب وكذلك تقليل الفترة بين الأجيال Generation Interval.

٢- الانـــتخاب باستخدام الماركرز لايعطي مطلقا اقل استجابة للانتخاب (م ا س) عنها في عدم وجود الماركرز وان هذه الاستجابة تتزايد بتقدم الأجيال.

٣- بـــرنامج (م ا س) أكثر اربحية عندما يكون هناك كيوتي إل مرتبطة بماركر وان الكـــيوتى إل ذات تأثير كبير أي يعزي إليها (للكيوتى ال) جزء كبير من التباين الوراثي.

٤- يمكن تتبع الكيوتى إل ذات التأثير الكبير حتى تثبت في العشيرة، مما يعنى إعادة تقدير تباين هذه الكيوتى إل علي فترات حتى تقل مساهمتها في قيمة التباين الوراثي.

٥- استخدام اكثر من كيو تي ال فى برنامج (م ا س) يضمن ميزة البقاء لهذا البرنامج ويكون العمق الانتخابي للكيوتي إل المنفردة ليس كبيرا وان الكيوتي إل غير المرتبطة بالماركر تساهم بجزء بسيط من التباين الكلي حيث ان الفائدة من (م ا س) يكون محددا بالجزء من التباين الوراثي الذي يعزى للكيوتى إل.

٦- عند تحديد كل الكيوتي إل المرتبطة بالماركرز فانه لن يكون هناك فرق بين قيمة العمق الانتخابي في برنامج (م ا س) (MAS) عنه في برنامج الانتخاب العادي (Non MAS).

٧- يمكن تحديد الكيوتي إل باستخدام كل المعلومات عن الماركرز الموجودة علي الكرموسوم معا Simultaneously و أو استخدام الصفات المتعددة مما يؤدي الي زيادة الدقة في تحديد موقع الكيوتي إل. كما ان تقدير تأثير الكيوتي إل من هذا يؤدي الى زيادة الدقة (م ا س) المتتابعة.

٨- عندما يكون الارتباط الوراثي بين الماركر والكيوتي إل ارتباطًا واسعًا Losely linked to QTL يتطلب ذلك معرفة طور الارتباط Linked Phase الوراثي بين الماركر والكيوتى إل سواء طور التزاوج Coupling، أو طور النفور Repulsion، وذلك لكل عائلة تحت الدراسة. والبديل لذلك هو البحث عن ماركرز في حالة ارتباط غير متزن Linkage Disequilibrium (LD) مع الكيوتي إل ويجب ان يستمر هذا الارتباط بين الماركر والكيوتي إل عبر العشائر across families.

٩- يسمح الارتباط غير المتزن باسخدام (الماركر-كيوتي إل) ومعرفة تأثيرها عبر العشائر أو عبر العائلات across families. ويعتمد (م ا س) علي الاستفادة من التباين الوراثي الذي يعزي الي الارتباط غير المتزن وقد وجد ان الخلط بين خطوط الانتخاب احدي الوسائل لايجاد الارتباط غير المتزن. ولذلك هناك أهمية خاصة (م ا س) وهو ادخال جينات من عشائر مصدرية (السلالات الاصيلة) الي الخطوط التجارية (الخطوط التجارية فى الدواجن مثلا) كما هو الحال في عملية الخلط Crossbreeding.

١٠- فــي حالة استخدام الماركرز يجب البحث عن ماركرز قريبة جدا (إجزاء من ال CM الواحـــد مثل 4,10) أو مرتبطة ارتبطا قويا بالكيوتي إل. ويصبح الارتــباط غـير المتزن كاملا Complete Linkage Disequilibrium عند تحديـد ماركرز متعددة الاليلات Unique polymorphic Markers وقريبة جـدا ومرتــبطة ارتبطا وثيقا لكيوتي إل معين. ويصبح كل اليل من اليلات الكيوتـــي إل الـــيل متطابقًا بالنسب (اليل IBD). وتصبح اليلات الكيوتي إل مرتــبطة ارتباطا وثيقا بالماركر الخاص بها Uniquely Associated with it's Own DNA Marker، وهـــنا يكــون الانـــتخاب ذو تاثير علي اليلات الكيوتي إل نفسها أي الانتخاب المباشر للكيوتي ال.

١١- اســتخدام الارتــباط غــير المتزن يؤدي إلي إجراء (م ا س) سهلا حيث انه وليس من الضروري وجود طور الارتباط لكل عائلة طلوقة معينة وليس من الضـــروري تقديـــر التأثـــيرات داخل كل عائلة، وليس من الضروري تراكم البيانات المظهرية Phenotypes والوراثية Genotypes.

١٢- يمكن استخدام الماركر هابلوتيب Marker-Haplotype (مجموعة من الاليلات لمواقـــع وراثية قريبة من بعضها) في حالة ارتباط غير متزن قوى Strong LD مع الكيوتي إل وهذه الماركر هابلوتيب تكون غالبا متطابقة بالنسب IBD وقد تحمل اليلات الكيوتي إل نفسها.

١٣- إن (م ا س) لـــه أهمـــية كبيرة في الانتخاب للصفات المرتبطة بالجنس Sex Limited Traits والانـــتخاب المـــبكر للحيوانات لاجراء اختبارات مستقبلية، وانـــتخاب الحـــيوانات الصغيرة والمشابة أو انتخاب الأجنة وكذلك دراسات الأمراض الوراثية.

١٤- الماركـــر جين DGAT1 والذى يلعب دورا فى إنتاج الحليب ومكوناته ، نجد ان هـــذا الجيـــن لـــه اليلين هما: اليل الليسين وهذا له تأثير واضح فى إنتاج محصـــول الدهن، وكذلك نسبة الدهن فى الحليب وعلى النقيض من ذلك نجد ان الـــيل الألانيـــن لـــل DGAT1 لـــه دور هام فى إنتاج الحليب ومحصول البروتيـــن. وفى الولايات المتحدة هناك أهمية اقتصادية موجبة للالانين وقيمة ســـلبية لليســـين، بيـــنما أدلـــة الانتخاب أثبتت أهمية الليسين فى بلاد أخرى كنيوزلـــندة مـــثلا. وقـــد وجد ان الأبقار التى ينتهى نسبها إلى أبقار الولايات المـــتحدة تحتوى على تكرار أعلى من اليل الالانين (70%) بينما الأبقار التى

ينــتهى نســبها إلى الأبقار النيوزلندية لها نسبة أعلى من تكرار اليل الليسين وبالطــبع تكــرار هذه الأليلات سواء فى الأبقار الأمريكية أو النيوزلندية هو نتــيجة للانــتخاب المســتمر لمحصول الحليب فى القطعان الأمريكية، كذلك الانــتخاب المســتمر لنســبة الدهن فى الأبقار النيوزلندية. وحيث ان تكرار الــيلات الألانين والليسين مرتفعة فى كلا من البلدين فإن إستخدام الماركرز برنامج (م ا س) له أهمية محدودة.

١٥- تكاليف المسح الجينومي Genotyping or Genome Scan أي تكاليف البحث عن الماركر هو معادلة في عدد الأفراد.

- عدد النسل الذى سيجري عليها المسح الوراثي.
- عدد الكروموسومات.
- عدد الماركرز لكل كروموسوم.
- قيمة تكلفة الماركر الواحد وهي 4 دولار/ ماركر/ كروموسوم/ حيوان.

أسباب الاختلافات فى نتائج أبحاث (م ا س) :

١- الاختلافات فى حجم وتأثير الكيوتى إل.

٢- الاختلافات فى تكرار الاليل.

٣- معدل حدوث التوافيق بين الماركر والكيوتى إل.

٤- نوع الماركر (فردي أو هبلوتيب).

٥- التباين المتبقى الراجع للتأثير التعددي Residual Polygeneic Variances.

٦- التباين البيئى.

٧- عدد الأجيال من الانتخاب.

٨- تركيب العشيرة وطريقة الانتخاب.

معوقات في استخدام برامج الماركرز المساعدة للانتخاب:

١- عــدد الاليلات وتكرارها في العشيرة القاعدية Base Population غير معروف سواء اليلات الماركرز، أو اليلات الكيوتى إل.

٢- الأب الأصيل Homozygous Parent لموقع الماركر حيث انه من غير الممكن تتــبع أي البل من زوج الاليلات الأبوية التي تقع على الكروموسومات المتماثلة Parental Homologus-Chromosome وانتقالها للنسل.

٣- لو كان كلا من الأبوين خليطا، ويحملا الاليلات نفسها علي موقع الماركر، لا يمكـن عـندئذ تحديـد مصدر الاليلات (هل هي من الأب أو من الأم) والتي يحملها النسل الخليط..

٥- لا يمكن ملاحظة التركيب الوراثي للكيوتي إل Genotype at QTL ولذلك لا يمكن معرفة أي من الآباء خليطا للكيوتي إل.

٥- من الممكن ان تكون الماركرز التي حددت وراثيا Selectively Genotyped تكون لجزء فقط من حيوانات العشيرة.

تم بحمد الله

المراجـــع

المراجع
References

Anderson, L (2001) Genetic isssection of phenoyypic diversity in farm animals. Nature Revs.Genet.2: 130-139.

Ashwell, M.S., W.Heyen, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, Y.Da., P.M, M.Ron,J.I. Weller,and H.A.Lewin (2004).Detection of Quantitative Trait Loci affecting milk production, Health and reproduction traits in Holstein cattle. J. Dairy. Sci. 86:468.

Bennewitz, N.R., S. Paul, C. Looft, B. Kaupe, C. Weimann, G. Erhardt, R. Reents,and E. Kalm (2003). The DGAT1-k232A mutation is not solely responsible for the milk production Quantitative Traits Locus on the Bovine Chromosome 14 .J. Dairy. Sci. 87:431.

Casas,E., S.N.White, D.G. Riley, T.P.L, Smith, R.A. Brennett, and C.C. Chase, Jr (2003). Assesment of SNP in genes residing on Chromosome 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos Indicus cattle. J Anim. Sci.83:13.

Churchill,G.A, and R.W. Doerge (1994) Empirical Threshold values for Quantitative Trait Mapping. Genetics .138: 963.

Chen,G.H., X.S. Wu,D.Q. Wang, J.Qin, S.L.Wu,Q.L. Zhang and .O.Olowofeso. Cluster analysis of 12 Chinese native chiken populations using Microsatellite markers (2004). A.J.A.S. 17:1047.

Dekkers, J.C.M (2004). Commercial applications of marker and gene-assisted selection in livestock. Strategies and lessons. J. Anim. Sci: 82: E313

Fernando, R.L, and Grossman, M (1989). Assisted Selection using best linear unbiased prediction. Genetics Selection Evaluation. 21,467.

Gianola, D (2005). Prediction of Random effects in finite mixture models with Gaussian components. J, Anim. Breed .Genet .122: 145.

Goddard, M.E., and Meuwissen, T.H.E (2005). The use of linkage disequilibrium to map Quantitative Trait Loci. Austr. J. Exp. Agric. 45:837.

Knott, S.A., J.M. Elsen, C.S. Haley (1996). Methods for Multiple-Marker mapping of Quantitative Trait Loci in half-sib populations. Theor. Appl. Genet .93:71.

Goddard, M.E (1992). A mixed model for analysis of data on multiple genetic markers.Theor. Appl. Genet. 83: 878.

Jim Hai-Guo., Zhao yu-min and Zhou Guo-li (2005) Analysis of Microsatellite cattle breeds and application to population genetics studies. AJAS .18:1696.

Kelm, S.C., J.C.D etilleux, A.E. Freeman, M.E.K ehrli. Jr, A.B. Dietz, L.K. Fox. J.e. Bulter, I. Kasckovics and D.H. Kelley. (1077). Association of Molecular and Physiological Markers of Immunity with Measures of Mastitis in periparturient Holstein cattle. Iowa State Report.

Lander, E.S., and D. Botstein (1989) .Mapping Mendelian factors underlying Quantitative Traits using RFLP Linkage Maps. Genetics: 121:185.

Liu,L., G.B. Jansen, and C.Y. Lin (2004). Quantitative trait Loci Mapping for dairy cattle production traits using a maximum likelihood. J. Dairy. Sci 87:491.

Liu, Y and Z.B. Zeng (2005). Mixture model equations for marker assisted genetic evaluation. J. Anim. Breed Genet. 122:229.

Meuwissen, T.H.E., and M.E. Goodard, 2000. Fine Mapping of QTL Using Linkage Disequilibria with Closely linked Marker Loci. Genetics 155:421.

Meuwissen, T.H.E., and J.A.M. Van Arendonk (1992). Potential Improvement in Rate of Genetic gain from Marker Asisted Selection in dairy cattle breeding Schemes. J. Dairy. Sci 75:1651.

Montaldo, H.H, and C.A. Meza-Herrera (1998). Use of Molecular markers and Major genes in the genetic Improvement of livestock. Molecular Biology and Genetics.1:1.

M. Perez-Enciso and I. Misztal (2004) xpak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analysis. Bioinformatics. 20:2792.

Nengjun Yi, Samprit Banerjee, Daniel Pomp and Brian S,Yandell (2007). Bayesian Mapping of Genomwide Interacting QTL for Ordinal Traits. Genetics.170:1855.

Olsen, H.G., L, Gomez-Raya, Vage, I, Olsaker, H. Klungland, N. Svendser, W. Kramer, G. Thaller, K. Ronningen, and S.Lien (2002). A Genome Scan for Quantitative Trait Loci affecting milk production in Norwegian dairy cattle. J. Dairy. Sci 85:3124.

Olsen, H.G., S.Lien, M. Svendsen, H. Nilsen, A. Roseth, M. Aasland Opsal, and T.H.E. Meuwissen (2003). Fine Mapping of Milk Production QTL on BTA6 by combined Linkage and Linkage Disequilibrium analysis.J. Dairy Sci.87:690.

Rohrer, G.A.,J.J. Ford, T.H. Wise, J.L. Vallet and R.K. Christenson (1999). Identification of QTL affecting female reproductive traits in multigeneration Meishan-White Composite Swine population.J. Anim.Sci 77:1385.

Jansen, R.C (1993). Interval Mapping of multiple QTL. Genetics 135:205.

Stone, R.T.,J.W. Keele, S.D. Shackel ford, S.M. Kappes, and M. Koohmaraie (1999) .A Primary Screen of the Bovine Genome for Quantitative Trait Loci affecting Carcass and Growth traits.J.Anim.Sci 77:1379.

Schenkel, F.S., S.P. Miller, Z. Jiang, I. B. Mendell, X.Ye, and J.W. Wilton (2006). Association of a single nucleotide Polymorphism in the Calpastain Gene with Carcass and Meat quality of Beef Cattle. J. Anim.Sci. 84, 291.

Van Arendonk, J.A.M., Tier, B and Kinghorn, B.P (1984). Use of Multiple Genetic markers in prediction of breeding Values. Genetics. 37:319.

Van der Waajj, E.H,P. Bijma, S.C. Bishop, and J.A.M. Van Arendonk (2002) Using Genetic Markers for disease resistance to improve production under constant infection pressure. J, Anim. Sci. 80:322.

Villanueva, B,R. Pong-Wang, J. Ferandez and M.A. Toro (2005) Benfits from Marker-Assisted Selection Under an additive polygeneic genetic model. G.Anim. Sci 83:1747.

Weller, J.L., Y. Kasi ,and M. Soller (1990), Power of Daughter and Granddaughter Designs for Determining Linkage Between Marker and Loci and Quantitative Trait Loci in dairy cattle. J.Dairy.Sci.73:2525.

Zhang, Q.,D. Boichard, I. Hoeschele, C. Ernst, A. Eggen, B. Murkve, M. Pfister-Genskow, L.E. White, F.E. Gringnda,

P.Umari, G. Thaller, and M.D. Bishop. (1998). Mapping QTL for milk production and health of Dairy Cattle in a large outbred pedigree.Genetics.149:1959.

المصطلحات

المصطلحات

Glossary

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

- هو اليـــلات متعددة تكونت بالتوفيـــق بين هضم الإنزيـــم المحدد Restriction Enzyme Digestion وتضخيم الدنا باستخدام ال PCR.

Allele

- هو أحد صور الجين أو الماركر.

Average effect of Gene substitution

- متوسط تأثير إستبدال الجين وذلك عندما يحل اليل محل اليل آخر.

Backcross

- الخلط الرجعى ، اى الخلط بين التركيب الوراثى الخليط واحد الأبويين.

cM centiMorgan

- وحدة قياس المسافة على الخريطة الوراثية.

Co dominance

- عندما تكون كل الاليلات عبر عنها تماما فى الفرد الخليط.

Coefficient of Cincidence (c)

- عـــدد مرات العبور المزدوج الملاحظ مقسوما على العدد المتوقع والكمية 1-C تسمى التداخل العبورى (Crossover Interference).

Comparative Mapping

- خرائط المقارنة وهى إستراتيجية نقل معلومات الجينوم عبر الأجناس بناءا على التماثل فى الجينوم بين الأجناس مثل الإنسان والفيران.

Composite Interval Mapping

- هو طريقة لعمل الكيوتى إل [استخدام الانحدار الجزئى والمتغيرات فى النموذج الاحصائى تشمل على متغيرات للمسافات ومتغيرات لأجزاء أخرى من الجينوم لتنظيم التأثيرات الوراثية.

Conditional Probability

- إحـــتمال الحدث معطا الشرط على سبيل المثال :إحتمال الفرد له التركيب AA معطا أفراد لها التركيب الوراثى BB اى إحتمال AA مشروطا على BB

EM algorithm

- هـــو طريقة إحصائية تدويرية iterative لإيجاد تقديرا للحدبة العظمى للمشاكل عـــند وجود بيانات غائبة والطريقة تشتمل على خطوتين التوقع Expectation

والتعظيم Maximization ويستخدم هذا الالجوريثم كثيرا فى التحليل الجينومى مثل تقدير معدل حدوث التوافيق وتكوين نماذج إحصائية لمواقع وراثية متعددة.

Genetic Linkage

- الارتباط الوراثى وهو الانعزال غير العشوائى للجينات أو الماركرز لوجودها قريبة من بعضها البعض

Genetic Map

- هو الترتيب الخطى للجينات أو الماركرز بناءا على معدل حدوث التوافيق الوراثيةRecombination.

Genetic Marker

- هو خاصية مورثة من السهل تتبعها لتحديد فرد ولرسم الخريطة الوراثية ويمكن تعريفها كجين وظيفي أو قطعة من الدنا لها وظيفة غير معروفة.

Genome

- كل الدنا التى تحمله الجاميطة.

Genome Database

- المعلومات التى تمثل كل الصفات التى يحملها الجينوم.

Genotype

- التركيب الوراثى للفرد.

Heterozygozity

- حالة الفرد الذى له اثنين من الاليلات المختلفة للجين.

Homology

- التشابه الجينومى.

Information content

- القيمة السالبة المتوقعة للتفاضل الثانى لمعادلة لوغاريثم الحدبة العظمى بالنسبة لثابت معين وهى مصفوفة لحالة من الماركرز المتعددة.

Interval Mapping

- مجموعة من الطرق التى تستخدم اثنين من الماركرز المجاورة لبعضها والتى تستخدم فى تقدير التأثيرات الوراثية وكذلك موقع الجينات فى الجينوم والتى تنظم عمل الصفات الكمية.

Lod Score

- هو اللوغاريتم للأساس 10 للنسبة بين الحدبة العظمى عند النظرية الفرضية والحدبة العظمى عند النظرية البديلة.

Likelihood Ratio Test

- هــو إختــبار لقــيمة تساوى 2 مضروبا للوغاريثم الطبيعي للنسبة بين الحدبة العظمــى عــند الــنظرية الــبديلة والحدبــة العظمــى عند النظرية الفرضية 2log(L1/L0) وهو يتوزع توزيع كاى بدرجات حرية تمثل الفرق بين درجات الحرية لكل من L1,L0.

Map density

- هو عدد الماركر فى وحدة المساحة من الجينوم.

Map Distance

- العدد المتوقع للعبور بين موقعين وهو تجمعى للمواقع المتعددة.

Marker Coverage

- هو الجزء من الجينوم الذى يمكن تغطيته بالماركرز أو أقصى طول لقطعة من الجينوم بين اثنين من الماركرز المتجاوريين.

Polymorphism

- هــو الاليلات المختلفة والتى يمكن تحديدها للجين أو الماركرز فى العشيرة او هى التعددية الاليلية للجين فى العشيرة.

Polymorphism Information Content (PIC)

- كمية البلومورفيزم وهو مقياس لتكرار الاليلات للجين أو الماركرز.

هذا الكتاب

وأخيرًا تم فتح الصندوق الأسود (الجينوم) فانبجست منه مفاهيم ، ومعادلات ، ونظريات ، واستراتيجيات لعلوم جديدة كلها تعمل على كشف حقيقة التباين فى أفراد وأجناس وعشائر الكون ، والتى أسهمت فى الوصول إلى علاج مشكلات كثيرة تعسر الإنسان طوال حياته فى تفسيرها أو حلها حتى أذن الله له اكتشافها وصدق قو

" كُلًّا نُّمِدُّ هَٰٓؤُلَآءِ وَهَٰٓؤُلَآءِ مِنْ عَطَآءِ رَبِّكَ وَمَا كَانَ عَطَآءُ رَ

(

ISBN 977-05-2569-3





The World of Words & Thoughts
www.anglo-egyptian.com